| CUPRINS SCURT

PARTEA ÎNTÂI Fundamentele Microbiologiei

Lumea microbiană și tu 1

Principii chimice 25

Observarea Microorganismelor

Prin microscop 53

Anatomia funcțională a

Celule procariote și eucariote 75

Metabolismul microbian 111

Creșterea microbiană 153

Controlul creșterii microbiene 181

Genetica microbiană 207

Biotehnologie și tehnologie ADN 244

PARTEA A DOUA Un studiu asupra

Lumea microbiană

PARTEA A cincea de mediu și

Microbiologie aplicată

Microbiologia mediului 772

Microbiologie aplicată și industrială 799

Clasificarea microorganismelor 272

Procariotele: domenii

Bacteriile și arheea 299

Eucariotele: ciuperci, alge,

Protozoare și Helminți 330

Viruși, viroizi și prioni 369

PARTEA A TREIA Interacțiunea dintre microb și gazdă

Principiile bolii și epidemiologiei

Mecanisme microbiene

de patogenitate 429

Imunitatea înnăscută: nespecifică

Apărarea gazdei 451

Imunitatea adaptativă: apărările specifice ale gazdei

Aplicații practice ale imunologiei

Tulburări asociate cu sistemul imunitar

Medicamente antimicrobiene

Răspunsuri la Review și Multiple

Întrebări de studiu de alegere AN-1

PARTEA A PATRA Microorganismele și bolile umane

Boli microbiene

al pielii și al ochilor 589

Boli microbiene ale

sistemul nervos 615

Faceți legătura între

Curs. Laboratorul și lumea reală

În a unsprezecea ediție, Microbiology: An Introduction vă ajută să faceți legătura dintre teoria microbiologică prezentată în text și aplicațiile din lumea reală, încurajându-vă să vedeți legătura dintre sănătatea umană și microbiologie.

16.:

Figuri de fundație revizuite uimitor

Foundation Figures se concentrează pe subiecte deosebit de importante în microbiologie. Numerele de etape marcate clar fac cifrele orientate spre proces ușor de urmărit, în timp ce „Conceptele cheie" evidențiază lecțiile de luat la pachet pentru o revizuire ușoară. În MasteringMicrobiology, Foundation Figures sunt activități extrem de interactive, concepute pentru a vă ghida prin conceptele și procesele esențiale ale microbiologiei, cu tutoriale aprofundate, în ritm propriu.

| Fazele fagocitozei [f

Pseudopode

(Receptor asemănător trudei)

membrana pia$ma

CONCEPTE-CHEIE

Tipuri de encefalită arbovirală

țânțar Culex plin de sânge uman.

Epidemiologie

Mortalitatea

Bolile în atenție ►

Microb parțial digerat

Detalii de aderență

Microb sau altă particule

PAMP (poptidogycan mcell wail)

Q CHEMOTAXIS

ADEREA fagocitelor la microbi

Chemotaxia, aderența, ingestia și digestia sunt faze ale fagocitozei.

Chemotaxia permite fagocitelor să migreze la locurile de infecție și să distrugă bacteriile invadatoare.

Fagocitoza este o a doua linie importantă de apărare imunitară. Fagocitele pot stimula, de asemenea, celulele T și B.

Receptorii asemănători Toff (TLR) sunt un punct central al cercetării tmmunologice actuale.

Ţânţar

Rezervor de vectori patogeni Distribuție în SUA

; Un macrofag fagocitar folosește un pseudopod pentru înghițire

< bacterii din apropiere.

Citoplasma

Q INGESTIERE

de microbi prin fagocit

Formarea fagozomului (veziculă fagocitară)

Fuziunea fagozomului cu un lizozom pentru a forma un fagolizozom

DIGESTIA microbilor ingerați de către enzimele din

conţinând

Encefalita arbovirală este de obicei caracterizată prin febră, cefalee și stare mentală alterată, de la confuzie la comă. Controlul vectorial pentru a reduce contactele dintre oameni și țânțari este cea mai bună prevenire. Controlul țânțarilor include eliminarea apei stătătoare și . folosind insecticide în aer liber. O fetiță de 8 ani din Wisconsinul rural are frisoane, dureri de cap și febră și spune că a fost mușcată de țânțari. Utilizați tabelul de mai jos pentru a determina ce tipuri de encefalită sunt cele mai probabile. Cum ai confirma diagnosticul? Pentru soluție, accesați www.masteringmicrobiology.com

Aceste casete vă încurajează să gândiți ca un clinician, punând un diagnostic diferențial bazat pe o scurtă prezentare clinică. Bolile în atenție includ tabele de boli, concentrându-se pe boli sau infecții similare. Aceste tabele sunt organizate în jurul simptomelor și agenților patogeni pentru a fi cât mai relevante din punct de vedere clinic. Activitățile Diseases in Focus din MasteringMicrobiology vă ajută să vedeți aplicațiile practice ale microbiologiei în viitoarea dvs. carieră.

Encefalită

mai puțin frecvente la om

20*.

r ■■ .ri 11

Encefalită

occidental

Mai sever decât EEE. afectează mai ales copiii mici și

1% dintre cei internați

WEE vrrus

(Togcv.vus)

leziuni neurologice, în special la sugari

Cele mai multe cazuri sunt asimptomatice - altfel simptomele variază de la

California

Encefalită

păsări,

Encefalita St Louis

spitalizat

Caz clinic: Mayhem microscopic Maryanne. un director de marketing în vârstă de 42 de ani și mamă a trei copii lucrează ocazional de acasă, dar întotdeauna simte că nu face atât de multe lucruri acasă ca la birou. Ea se confruntă cu stomacul recurent al soțului că ar trebui

să cumpere acțiuni la Pepto-Bismol, deoarece își face o programare pentru a-și vedea medicul primar. După ce a auzit că Maryanne se simte mai bine imediat după ce a luat Pepto-Bismol, medicul bănuiește că Maryanne ar putea avea un ulcer peptic asociat cu Helicobacter.

NOU! Cazuri clinice

Cazurile clinice din fiecare capitol vă ajută să vă motivați să gândiți critic despre conținutul capitolului și vă oferă aplicații practice pentru viitoarea dvs. carieră în domeniul sănătății. Fiecare segment de caz include o întrebare de gândire critică legată de materialul capitolului. În MasteringMicrobiologyj studiile de caz suplimentare prind viață cu imagini și întrebări, conducându-vă prin procesul de diagnosticare a bolii.

5um pylori.

Ce este Helicobacter pylori? Citiți mai departe pentru a afla.

54

Focus clinic

Casetele Clinical Focus conțin date din Raportul săptămânal privind morbiditatea și mortalitatea de la Centers for Disease Control and Prevention (CDC) modificate în scenarii clinice de rezolvare a problemelor, cu întrebări pentru a vă ajuta să vă dezvoltați abilitățile de gândire critică.

Tuberculoza umană-Dallas, Texas

CLINK/ALF

Din Raportul săptămânal privind morbiditatea și mortalitatea

Care este rezultatul prezentat în figura BÎ

Controla

și teste radiologice. Rezultatele testelor sugerează tuberculoză peritoneală. Cauzată de una dintre câteva specii strâns înrudite din complexul Mycobacterium tuberculosis, TBC este o afecțiune care poate fi raportată în Statele Unite. Peritonea! TBC este o boală a intestinelor și a cavității abdominale.

Ce organ este de obicei asociat cu tuberculoza? Cum ar putea somton să facă TB peritoneală?

TBCul pulmonar este contractat prin inhalarea bacteriilor; ingerarea bacteriilor poate duce la TBC peritoneal. O laparoscopie dezvăluie că sunt prezenți noduli în cavitatea abdominală

a Dariei. O porțiune dintr-un nodul este îndepărtată pentru biopsie, astfel încât să poată fi observată

pentru prezența bacteriilor acido-rezistente. Pe baza prezenței nodulilor abdominali, medicul Daria începe tratamentul antituberculos convențional. Acest tratament pe termen lung poate dura până la Î2 luni.

Ce eu* pasul următor?

Rezultatele de laborator confirmă că bacteriile acido-resistente sunt într-adevăr prezente în cavitatea abdominală a Dariei. Laboratorul trebuie acum să identifice Mycobacterium

Deoarece testul ureazei este pozitiv, se efectuează testul de reducere a nitraților. Acesta arată că bacteriile nu produc enzima nitrat reductază. Medicul Dariei le anunță părinților ei că sunt foarte aproape de a identifica agentul patogen care cauzează boala Dariei.

Ce este bacteria?

M. bovis este un agent patogen care infectează în primul rând bovinele. Cu toate acestea, oamenii se pot infecta prin consumul de produse lactate nepasteurizate sau prin inhalarea infecțioase

Figura B Testul ureazei. Într-un test pozitiv, ureaza bacteriană hidrolizează ureea, producând amoniac. Amoniacul crește pH-ul, iar indicatorul din mediu se transformă în fucsia.

Figura A O schemă de identificare pentru speciile selectate de micobacterii cu creștere lentă.

Nitrat

picături de la bovine. De la om la om. transmiterea are loc doar rar. Caracteristicile clinice și patologice ale tuberculozei M. bovis nu se pot distinge de tuberculoza M. tuberculosis, dar identificarea bacteriei este importantă pentru prevenire și tratament. Copiii pot fi expuși unui risc mai mare. Într-un studiu, aproape jumătate din cazurile de TB pediatrică cu cultură pozitivă au fost cauzate de M. bovis.

Din păcate, Daria nu își revine după boală. Sistemul ei cadiovascular se prăbușește și moare. Cauza oficială a decesului este tuberculoza peritoneală cauzată de M. bovis. Toată lumea ar trebui să evite consumul de produse din lapte de vacă nepasteurizat, care prezintă riscul de a transmite M. bovis dacă sunt importate din țări în care bacteria este comună la bovine.

M. tuberculoza

Sourer Adaptat de la RodweH TC, Moore M, Moser KS Brodine SK, Strathdee SA, „Mycobacterium bovis Tuberculosis in Binational Communities.” Emerging Infectious Diseases, iunie 2008, volumul 14 (6), pp. 909-916. Disponibil de la httpy/www.cdcgov/eid/content/14/6/909.

◄ NOU! Cifrele ciclului de viață

Cifrele ciclului de viață descompun procesele complexe în pași mai ușor de înțeles. Fiecare figură a ciclului de viață are coduri de culori pentru a diferenția între pașii care implică reproducerea sexuală sau asexuată.

Sosiți pregătit pentru prelegere și laborator

Lhe Mastering online teme și sistem de îndrumare oferă tutoriale în ritm propriu, care vă oferă coaching individualizat, stabilit pentru obiectivele cursului profesorilor dumneavoastră. MasteringMicrobiology vă ajută să ajungeți mai bine pregătit pentru prelegere și laborator cu întrebări de lectură, activități de coaching, tutoriale și multe altele. Cercetările arată că feedbackul imediat Masterings și asistența didactică vă ajută să înțelegeți și să stăpâniți conceptele de microbiologie, ceea ce înseamnă că păstrați mai multe cunoștințe și obțineți performanțe mai bune în cursurile ulterioare.

x NOU! laborator

Tehnica Videoclipuri

Videoclipurile cu tehnica de laborator sunt videoclipuri de 3-5 minute, care demonstrează tehnici specifice de laborator. Aceste videoclipuri acoperă proceduri frecvent efectuate, cum ar fi tehnica aseptică, colorația Gram și pregătirea frotiurilor. Videoclipurile vă ajută să vă pregătiți pentru laboratorul umed și, de asemenea, vă permit să revizuiți tehnicile în timpul liber. Testele vă testează înțelegerea pașilor implicați în fiecare tehnică pentru a vă asigura că profitați la maximum de videoclipuri.

Stăpânirea

www.masteringmîcrobîology.com

un NOU! Tutori MicroLab

„Acești tutori vă ajută să profitați la maximum de timpul de laborator. Fiecare Tutor MicroLab începe cu o prezentare clinică și un videoclip cu tehnică. Selectați iMicroLab Tutors, precum Gram Stain MicroLab Tutor, conțin și o animație care ilustrează procedura la nivel molecular, ajutându-vă să vizualizați fiecare proces. Fiecare întrebare din tutorial conține sugestii și feedback care includ microfotografii, clipuri video sau clipuri de animație și sunt concepute pentru a vă asigura că sunteți pregătit pentru laborator prin introducerea și evaluarea înțelegerii dvs. a conceptelor și tehnicilor de laborator în afara cursurilor oficiale și a timpului de laborator. Select Tutors va conține o animație care ilustrează procedura la nivel molecular, așa cum este cazul în această probă pentru tutorul colorației Gram.

Ce spun instructorii...

„Acesta este lucrul perfect pentru a îmbunătăți învățarea elevilor despre procedură, împreună cu oferirea de feedback atât pentru procedurile corecte, cât și pentru cele incorecte.” — Tanya Crider, instructor

Colegiul Comunitar East Mississippi

Resurse online de neegalat pentru

Practică suplimentară și evaluare a studenților

Toate resursele găsite anterior pe site-ul Microbiology Place™ sunt acum accesibile și atribuibile în MasteringMicrobiology. MasteringMicrobiology se bazează pe aceste instrumente de studiu și include conținut și evaluări noi, permițând o practică mai frecventă a studenților și un management mai semnificativ al cursurilor.

Întrebările de stăpânire sunt legate de rezultatele învățării specifice din Tortora, Funke și .Case, precum și de rezultatele de învățare ale științei globale și de cele furnizate de Centrul pentru licență al Societății Americane de Microbiologie.

Educatorii. Acestea oferă un instrument puternic pentru urmărirea învățării individuale ale studenților și evaluarea obiectivelor cursului.

Cel mai bun suport pentru instructori și studenți

NOU! Experimente de laborator în microbiologie, ediția a zecea

de Ted R. Johnson și Christine L. Cazul 978-0-321-79438-3. 0-321-79438-9 Conținând 57 de exerciții testate temeinic, acest manual oferă laboratoarelor captivante instrucțiuni despre efectuarea tehnicilor și aplicațiilor de bază de microbiologie în diverse domenii, inclusiv științe biologice, științe conexe ale sănătății, agricultură, știința mediului, nutriție, farmacie și diverse programe pre-profesionale. Cea de-a zecea ediție este ușor de personalizat și prezintă un program de artă actualizat și un design plin de culoare, integrând micrografii valoroase pe parcursul fiecărui exercițiu. În plus, multe dintre ilustrații au fost re-redate într-un stil modern, realist, tridimensional, pentru a implica mai bine vizual studenții. Experimentele au fost rafinate pe tot parcursul manualului, iar cea de-a zecea ediție include un nou exercițiu care utilizează pGLO pentru a demonstra transformarea bacteriilor și pentru a prezenta studenților această tehnică importantă.

Tehnici pentru microbiologie: un manual pentru student

de John M. Lammert 978-0-13-224011-6 • 0-13-224011-4

Tehnicile de microbiologie ale lui Lammert sunt foarte vizuale și încorporează „baloane vocale” care vă mențin concentrat asupra procesului relevant. Tehnicile sunt cele care vor fi utilizate frecvent pentru studierea microbilor în laborator și le includ pe cele identificate de

Societatea Americană de Microbiologie în recomandările sale pentru Curriculumul de bază al Laboratorului de Microbiologie (recomandări în care

SUPLIMENTE SUPLIMENTARE

Pentru Instructori

DVD/CD-ROM de resurse pentru instructor

978-0-321-79309-6 • 0-321-79309-9

Acest set de DVD-uri multiplatformă organizează resursele media pentru instructor pe capitole pentru o referire și o prezentare ușoară. Pachetul media pentru instructor include:

Toate figurile din carte cu și fără etichete în format JPEG și PowerPoint".

Toate figurile din cartea cu Eticheta

Editați funcția în format PowerPoint

Selectați „procesează" cifre din carte cu funcția Step Edit în format PowerPoint

Toate tabelele din carte

Multimedia, inclusiv animațiile de microbiologie, videoclipurile de microbiologie și animațiile MicroFlix™ și animațiile BioFlix"

Contururi PowerPoint, inclusiv figuri din carte, tabele din carte și link-uri către multimedia

Întrebări Clicker

Ghidul instructorului și Banca de teste

ca fișiere Microsoft Word editabile

Test Bank în formatele TestGen" și Word.

Ghidul instructorului/Banca de teste

978-0-321-79308-9 * 0-321-79308-0

MasteringMicrobiology®

www.masteringmicrobiology.com

TestGen computerizat

Banca de teste

(doar descărcare)

978-0-321-81061-8.0-321-81061-9

Pentru Studenți

Ghid de studiu

978-0-321-80299-6j0-321-80299-3

MasteringMicrobiology — Standalone Access Gard 978-0-321-80270-5 10-321-80270-5

Stăpânirea Microbiologiei

www.masteringmicrobiology.com

Pregătiți-vă pentru microbiologie (pachet de valoare) de Lori K. Garrett și Judy M. Penn 978-0-321-59592-8 • 0-321-59592-0

MasteringMicrobiology with Pearson eText 978-0-321-81144-8 • 0-321-81144-5

Microbiologie

O introducere

EDIȚIA A XI-A

Gerard J. Tortora

Colegiul Comunitar din Bergen

Berdell R. Funke

Universitatea de Stat Dakota de Nord

Christine L. Case

Colegiul Skyline

PEARSON

Boston Columbus Indianapolis New York San Francisco Upper Saddle River
Amsterdam Cape Town Dubai Londra Madrid Milano Munchen Paris Montreal Toronto
Delhi Mexico City Sâo Paulo Sydney Hong Kong Seul Singapore Taipei Tokyo

Credit foto de copertă: Alfred Pasieka/Photo Researchers, Inc.

Creditele și mulțumirile pentru materialul împrumutat din alte surse și reprodus, cu permisiune, în acest manual apar pe pagina corespunzătoare din text sau după Glosar.

Datele de catalogare în publicație ale Bibliotecii Congresului

Tortora, Gerard J.

Microbiology': an introduction I Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case.—ed. a 11-a.

p.; cm.

Include referințe bibliografice și index.

ISBN-13:978-0-321-73360-3 (ed. student) ' * '

ISBN-10: 0-321-73360-6 (ed. student) I—

NRNT 37 1 "cnino/ \ 3.CU ./I Ei'.'ilTcSCU" DȘI

IodIx-13: 978-0-321-/9310-2 (copie examen) . t ■

ISBN-10: 0-321-79310-2 (copie pentru examen)

I. Funke, Berdell R. II. Caz, Christine L„ 1948- III Titlu.

[DNLM: I. Microbiologie. QW 4] 579—dc23

2011042916

ISRN lnISn «1°- j >21'73360'6: ISBN 13: 978-°'32l-73360-3 (Ediția pentru studenți) ISBN 10:0-321-79310-2; ISBN 13:978-0-321-79310-2 (Copie de recenzie a instructorului) 12 3 456789 10—CRK—15 14 13 12 11

DESPRE AUTORI

Gerar 1 J. Tortora Jerry Tortora este profesor de biologie și predă microbiologie, anatomie umană și fiziologie la Bergen Community College din Paramus, New Jersey. Și-a luat masterul în biologie de la Montclair State College în 1965. El aparține unui număr de organizații de biologie/microbiologie, cum ar fi Societatea Americană de Microbiologie (ASM), Societatea de Anatomie și Fiziologie Umană (HAPS), Asociația Americană pentru Avansarea Științei (AAAS), Asociația Națională de Educație (NEA), Asociația Educațională și New Jersey (NJEA).

Asociația Metropolitană a Biologilor Colegiului și Universității (MACUB). Jerry este autorul a numeroase manuale de științe biologice. În 1995, a fost selectat drept unul dintre cei mai buni oameni de știință ai colegiului comunitar Bergen și a fost numit Distinguished Faculty Scholar. În 1996, Jerry' a primit un premiu de excelență al Institutului Național pentru Dezvoltarea Personalului și Organizațională (NISOD) de la Universitatea din Texas și a fost selectat să reprezinte Bergen Community College într-o campanie de creștere a conștientizării contribuțiilor colegiilor comunitare la învățământul superior.

Berdell R. Funke Bert Funke a primit doctoratul, MS și BS în microbiologie de la Universitatea de Stat din Kansas. Și-a petrecut anii profesionali ca profesor de microbiologie la Universitatea de Stat din Dakota de Nord. A predat microbiologie introductivă, inclusiv secțiuni de laborator, microbiologie generală, microbiologie alimentară, microbiologie a solului, parazitologie clinică și microbiologie patogenă. În calitate de cercetător în stația de experimente din statul Dakota de Nord, a publicat numeroase lucrări în domeniul solului.

microbiologie și microbiologie alimentară.

Christine L. Case Chris Case este microbiolog înregistrat și profesor de microbiologie la Skyline College din San Bruno, California, unde a predat în ultimii 40 de ani. Ea a primit Ed.D. în curriculum și instruire de la Universitatea Nova Southeastern și MA în microbiologie de la Universitatea de Stat din San Francisco. Ea a fost director pentru Societatea pentru Microbiologie Industrială (SIM) și este un membru activ al ASM și SIM de Nord din California. Ea a primit

premiile ASM și California Hayward pentru educatori remarcabili. În 2008, Chris a primit premiul SACNAS Distinguished Community/Tribal College Mentor Award pentru angajamentul ei față de studenții săi, dintre care mulți au prezentat la conferințe de cercetare de licență și au câștigat premii. Pe lângă predare, Chris contribuie în mod regulat la literatura profesională, dezvoltă metodologii educaționale inovatoare și menține un angajament personal și profesional față de conservare și importanța științei în societate. Chris este, de asemenea, un fotograf pasionat și multe dintre fotografiile ei apar în această carte.

PREFAȚĂ

De la publicarea primei ediții în urmă cu aproape 30 de ani, peste un milion de studenți au folosit Microbiology: An Introduction la colegii și universități din întreaga lume, făcându-l cel mai important manual pentru microbiologie non-principale. Cea de-a unsprezecea ediție continuă să fie un text de început cuprinzător, presupunând niciun studiu anterior de

biologie sau chimie. 1 textul este potrivit pentru studenții dintr-o mare varietate de programe, inclusiv științe conexe ale sănătății, științe biologice, știința mediului, știința animalelor, silvicultură, agricultură, economie casnică și arte liberale.

A unsprezecea ediție a păstrat caracteristicile care au făcut această carte atât de populară:

□ Un echilibru adecvat între fundamentele și aplicațiile microbiologice și între aplicațiile medicale și alte domenii aplicate ale microbiologiei. Principiilor microbiologice de bază li se acordă un accent mai mare decât aplicațiilor, iar aplicațiile legate de sănătate sunt prezentate.

» Prezentarea simplă a subiectelor complexe. Fiecare secțiune a textului este scrisă având în vedere elevul.

I Ilustrații și fotografii clare, precise și eficiente din punct de vedere pedagogic. Diagramele pas cu pas care se coordonează strâns cu descrierile narative ajută elevii să înțeleagă conceptele.

° Organizare flexibilă. Am organizat cartea în ceea ce credem că este un mod util, recunoscând totodată că materialul ar putea fi prezentat în mod eficient în alte secvențe. Pentru instructorii care doresc să folosească o ordine diferită, am făcut fiecare capitol cât mai independent posibil și am inclus numeroase referințe încrucișate. Ghidul instructorului, scris de Christine Case, oferă instrucțiuni detaliate pentru organizarea materialului în mai multe alte moduri.

NOU LA EDIȚIA A XI-A

Introducerea vizuală de la începutul cărții conține mai multe detalii despre ediția a unsprezecea.

Cea de-a unsprezecea ediție îi întâlnește pe toți studenții la nivelul lor de abilități și înțelegere, abordând în același timp cele mai mari provocări cu care se confruntă instructorii. Actualizările noii ediții a unsprezecea sporesc pedagogia consecventă a cărții și explicațiile clare. Urmează câteva dintre cele mai importante momente ale celei de-a unsprezecea ediții:

□ Integrare media de ultimă oră. MasteringMicrobiology (www.masteringmicrobiology.com) oferă resurse de evaluare de ultimă oră fără precedent pentru instructori, precum și instrumente de auto-studiu pentru studenți. MicroFlix 3-D și Microbiology'Animations permit studenților să vizualizeze concepte cheie; noile întrebări Foundation Figure permit elevilor să stăpânească materialul de bază; noile studii de caz subliniază aplicațiile din lumea reală; și videoclipurile Lab Technique sunt asociate cu manualul de laborator pentru a pregăti studenții astfel încât să profite la maximum de timpul de laborator.

n Noi cazuri clinice care leagă studiul microbiologiei cu aplicațiile din lumea reală. Cazurile clinice permit studenților să aplice ceea ce au învățat în scenarii din viața

reală. Pe măsură ce studentul citește capitolul, ei pot urmari împreună cu Cazul clinic și pot răspunde la întrebări de gândire critică care se referă direct la materialul pe care tocmai l-a citit.

b Ilustrații și fotografii care îmbunătățesc înțelegerea elevilor. Cifrele de bază și cifrele ciclului de viață au fost revizuite uimitor pentru a stimula înțelegerea elevilor. Foundation Figures, care integrează text și imagini pentru a ajuta studenții să stăpânească conceptele de bază ale microbiologiei, includ acum o listă cu marcatori de concepte cheie. Toate cifrele în trepte (inclusiv figurile fundației și cifrele ciclului de viață) au fost făcute pentru a fi complet autoexplicative, astfel încât studentul să nu fie nevoit să se bazeze pe legendele lungi pentru a le urma. Noua ediție include, de asemenea, peste 100 de noi micrografii electronice și luminoase de o calitate de neegalat pe piață.

*** Adăugarea unui nume! activitate la Întrebările de studiu de la sfârșitul fiecărui capitol. Această întrebare oferă indicii despre natura fizică și biochimică a unui microb, semnele și simptomele bolii pe care o provoacă microbi, informații despre tratament etc., apoi le cere elevilor să-și folosească abilitățile de gândire critică pentru a identifica microbul.**

REVIZIUNI CAPITOLUL CU CAPITOLUL

Fiecare capitol din această ediție a fost complet revizuit, iar datele din text, tabele, casetele Clinical Focus și figuri au fost actualizate până în februarie 2011. Principalele modificări aduse fiecărui capitol sunt rezumate mai jos.

Capitolul 1

A fost adăugată o nouă secțiune despre gripa HlN1 (gripa porcină).

A fost adăugată o nouă secțiune despre tuberculoza multirezistentă.

Figura 1.3 este acum o figura de fundație.

Capitolul 2

A fost adăugat un nou tabel privind legăturile chimice.

Un nou tabel compară ADN și ARN.

Capitolul 5

Discuția despre fotofosforilare a fost revizuită.

Capitolul 6

O nouă casetă Aplicații ale microbiologiei se adresează vieții în medii extreme.

Capitolul 8

Micro ARN și controlul epigenetic sunt acum incluse.

Capitolul 9

Discuțiile despre tăcere genetică și microbiologia criminalistică au fost revizuite.

Sunt incluse exemple de utilizări veterinare ale tehnologiei ADNr și nanotehnologiei.

„Este prezentat Proiectul Minimal Genome.

Capitolul 10

Arborele vieții a fost revizuit pentru a include informații noi despre transferul orizontal al genelor între linii.

Se introduce un ceas molecular.

Sunt explicate testele de amplificare a acidului nucleic.

Capitolul 11

Secțiunea referitoare la bacteriile gram-negative non-proteobacterii a fost reorganizată.

Materialul despre bacteriile fotosintetice violet și verzi a fost revizuit pe larg. S-a adăugat o discuție despre deinococi.

Capitolul 12

Sunt incluse cele mai noi modificări ale taxonomiei fungice și protozoare.

Capitolul include acum discuții despre microsporidii, agenți patogeni oportuniști emergenti.

Capitolul 13

Discuțiile privind epidemiile de gripă și trecerea barierei speciilor au fost actualizate.

Capitolul 14

Datele din graficele de epidemiologie au fost actualizate până în 2010.

A fost adăugată o nouă secțiune despre Proiectul Microbiomului Uman.

A fost inclusă o nouă secțiune privind infecțiile asociate asistenței medicale.

Capitolul 15

zX new zXpplications of Mien ibiology box se adresează streptokinazei.

Capitolul 16

Secțiunea despre inflamație a fost revizuită.

Tabelul privind răspunsurile imunității înnăscute a fost revizuit.

Capitolul 17

O discuție despre celulele Th 17 T și ineficiența altor celule T de a face față anumitor infecții a fost extinsă foarte mult.

Capitolul 18

Discuția despre diferitele tipuri de vaccinuri a fost actualizată și revizuită pe larg.

„Discuția despre adjuvanți a fost complet actualizată și revizuită.

S-a adăugat o discuție despre vaccinurile fără ace.

Semnificația ortografiei denumirilor de anticorpi monoclonali este acum explicată.

Capitolul 19

Discuția despre HIV/SIDA DS a fost pe larg actualizată și revizuită.

Capitolul 20

S-au adăugat discuții despre unele dintre cele mai noi antibiotice și tipuri de antibiotice, cum ar fi pleuromutilinele.

Acum este inclusă o discuție despre tratamentele pentru malarie pe bază de artemisinină.

Discuția despre superbacteriași rezistente la antibiotice a fost extinsă.

A fost adăugat un eseu despre viitorul agenților chimioterapeutici.

Capitolul 21

b Un focar de dermatită Pseudomonas este descris în Cazul Clinic.)

Capitolul 22

Discuția despre bolile meningococice și vaccinurile pentru poliomielita a fost revizuită pe larg.

Hărțile, graficele și alte lucrări de artă au fost actualizate și revizuite.

Capitolul 23

Primul caz de febră dengue dobândit în Statele Unite este descris în Cazul Clinic.

Capitolul 24

„Discuția despre etiologia și simptomele răcelii comune a fost extinsă.

Diagnosticul de tuberculoză a fost actualizat și extins.

Discuția despre gripă a fost considerabil extinsă și actualizată.

Capitolul 25

Discuțiile despre diareea călătorilor (gastroenterita E. coli) și infecțiile cu hepatită B au fost revizuite pe larg.

Discuția despre diareea asociată cu Clostridium difficile este acum inclusă.

Capitolul 26

» Discuția despre gonococ descrie acum proteinele Opa.

Discuția despre herpesul neonatal și verucile genitale a fost actualizată și revizuită.

Capitolul 27

Figura care ilustrează ciclul sulfului a fost revizuită.

Capitolul 28

Microbiologia asigurării calității este demonstrată în Cazul Clinic.

MULȚUMIRI

În pregătirea acestui manual, am beneficiat de îndrumarea și sfatul unui număr mare de instructori de microbiologie din toată țara". Acești recenzori au oferit critici constructive și sugestii valoroase în diferite etape ale revizuirii. Ne recunoaștem cu recunoștință datoria față de acești indivizi.

Michelle L. Badon, Universitatea din Texas din Arlington

James K. Collins, Universitatea din Arizona

Robin L. Cotter, Phoenix College Melissa A. Deadmond, Truckee Meadows Community College Jennifer Freed, Rio Salado College

Edwin Gines-Candelaria, Miami Dade College Fran Hardin, Ivy Tech Community College of Indiana Dr. Mark Jaffe, Nova Southeastern University Judy Kaufman, Monroe Community („presupune

Ken Malachowsky, Colegiul Tehnic Florence-Darlington John L. McKillip, Universitatea Ball State

Janie Milner, Santa Fe Community College Virendra Nayyar, Windward Community College Susan B. Roman, Georgia State University Chris Sowers, Forsyth Technical Community College Paula Steiert, St. John's College of Nursing din Southwest Baptist University

Donald L. Terpening, Colegiul Comunitar din Ulster County John E. Whitlock, Colegiul Comunitar din Hillsborough Brenda Zink, Colegiul Junior de Nord-Est

De asemenea, mulțumim personalului de la Benjamin Cummings pentru dedicarea față de excelență. Kelsey Volker, editorul nostru de achiziții, ne-a menținut cu succes pe toți concentrați asupra locului în care dorim să ajungă această revizuire. Katie Cook, editor de proiect, a gestionat cu măiestrie programul și progresul cărții, păstrând liniile de comunicare deschise și asigurând cea mai înaltă calitate în fiecare etapă. Atenția atentă a Sally Peyrefitte pentru continuitate și detaliu în editarea ei atât a textului, cât și a artei a servit pentru a menține conceptele și informațiile clare pe tot parcursul. Editorul de dezvoltare, Cindi Crimson Jones, a fost de mare ajutor pe tot parcursul proiectului.

Michele Mangelli a lucrat îndeaproape cu editorial în primele etape ale acestei revizuiri și a ghidat cu măiestrie cartea prin procesul complex de producție, gestionând echipa de producție. Janet Vail a ghidat textul prin procesul de producție și a gestionat fluxul de lucru de zi cu zi. Elisheva Marcus și Marilyn Perry au dezvoltat noile figuri uimitoare Foundation Figures și Life Cycle. Elisheva Marcus a direcționat revizuiri ale programului de artă și fotografie, a furnizat conceptul și dezvoltarea stilului și a lucrat îndeaproape cu echipa pentru a asigura acuratețea conținutului și standardele estetice. Personalul talentat de la Precision Graphics a gestionat cu grație volumul mare și actualizările complexe ale programului nostru de artă și fotografie. David Novak a coordonat numeroasele etape complexe ale redării artei și procesării fotografiilor. Cercetatorul nostru foto, Maureen Spuhler, s-a asigurat că avem imagini clare și izbitoare pe tot parcursul cărții. Gary Hespenheide a creat designul interior elegant, iar Yvo Riezebos a făcut o treabă minunată cu coperta. Echipa calificată de la Nesbitt Graphics a mutat această carte prin procesul de compunere. Karen Hollister a pregătit indexul, iar Betsy Dietrich a corectat cu atenție toate paginile. Stacey Weinberger a ghidat cartea prin procesul de fabricație.

Denise Wright de la Southern Editorial s-a ocupat impecabil de suplimentele pentru instructor și studenți. Liz Winer a gestionat programul media, făcând multe miracole pentru a produce o gamă impresionantă de resurse în MasteringMicrobiology. Dorothy Cox și Shannon Kong au gestionat suplimentele tipărite și media prin etapele complexe de producție.

Neena Bali, Executive Marketing Manager, și întreaga forță de vânzări Pearson fac o treabă excelentă prezentând această carte instructorilor și studenților și asigurându-și statutul neclintit de cel mai bine vândut manual de microbiologie.

Dorim să le mulțumim soților și familiilor noastre, care ne-au oferit un sprijin neprețuit pe parcursul procesului de scriere.

În cele din urmă, avem o apreciere durabilă pentru studenții noștri, ale căror comentarii și sugestii oferă o perspectivă și ne amintesc de nevoile lor. Acest text este pentru ei.

Gerard J. Tortora *Berdell R. Funke* *Christine L. Caz*

PARTEA ÎNTÂI Fundamentele Microbiologiei

Lumea microbiană și tu 1

Principii chimice 25

Observarea microorganismelor prin

un microscop 53

Anatomia funcțională a procariotei

și celule eucariote 75

Metabolismul microbian 111

Creșterea microbiană 153

Controlul creșterii microbiene 181

Genetica microbiană 207

Biotehnologie și tehnologie ADN 244

PARTEA A DOUA Un studiu asupra lumii microbiene

Clasificarea microorganismelor 272

Procariotele: Domenii Bacteriile

și Archaea 299

Eucariotele: ciuperci, alge, protozoare și helminți 330

Viruși, viroizi și prioni 369

PARTEA A TREIA Interacțiunea dintre microb și gazdă

Principiile bolii și epidemiologiei 401

Mecanisme microbiene de patogenitate 429

Imunitatea înnăscută: apărări nespecifice

a Gazdei 451

Imunitatea adaptivă: apărări specifice

a Gazdei 478

Aplicații practice ale imunologiei 504

Tulburări asociate cu

Sistemul imunitar 527

Medicamente antimicrobiene 558

PARTEA A PATRA Microorganismele și bolile umane

Boli microbiene ale pielii și ochilor 589

Boli microbiene ale sistemului nervos 615

Boli microbiene ale sistemului cardiovascular

și sistemele limfatice 643

Boli microbiene ale căilor respiratorii

Sistemul 680

Boli microbiene ale sistemului digestiv 711

Boli microbiene ale tractului urinar

și sistemele reproductive 749

PARTEA A cincea Microbiologie de mediu și aplicată

Microbiologia mediului 772

Microbiologie aplicată și industrială 799

Răspunsuri la revizuire și alegere multiplă

Întrebări de studiu AN-1

Anexa A Căi metabolice AP-1

Anexa B Exponenți, notație exponențială, logaritmi și timp de generație AP-7

Anexa C Metode de prelevare a probelor clinice AP-8

Anexa D Pronunțarea numelor științifice AP-9

Anexa EW ord Rădăcini utilizate în microbiologie AP-13

Anexa F Clasificarea procariotelor conform manualului lui Bergey AP-16

Glosar Gl -

Credite Cl

Index 1-1

PARTEA ÎNTÂI Fundamentele Microbiologiei

d Lumea microbiană

si tu 1

Microbii în viețile noastre 2

Numirea și clasificarea microorganismelor 2

Nomenclatură • Tipuri de Microorganisme • Clasificarea Microorganismelor

O scurtă istorie a microbiologiei 6

Primele observații • Dezbaterea asupra generației spontane • Epoca de aur a microbiologiei • Naşterea chimioterapiei moderne: Visele unui „glonț magic" • Evoluții moderne în microbiologie"

Microbii și bunăstarea umană 15

Reciclarea elementelor vitale • Tratarea apelor uzate: Folosirea microbilor pentru reciclarea apei • Bioremediere: Folosirea microbilor pentru curățarea poluanților I Controlul insectelor dăunătorilor prin microorganisme • Biotehnologie modernă și tehnologie ADN recombinant

Microbii și bolile umane 16

Microbiotă normală • Biofilme • Infecțioase

Boli • Boli infecțioase emergente

Schema studiului • Întrebări de studiu 21

Principii chimice 25

Structura atomilor 26

Elemente chimice • Configurații electronice

Cum formează atomii moleculele: legături chimice 27

Legături ionice • Legături covalente • Legături de hidrogen

Greutate moleculară și alunițe

Reacții chimice 31

Energia în reacții chimice • Reacții de sinteză

Reacții de descompunere • Reacții de schimb

I el Reversibilitatea (reacțiilor hemice

MOLECULE BIOLOGICE IMPORTANTE 33

Compuși anorganici 33

Apă • Acizi, baze și săruri • Echilibrul acido-bazic: Conceptul de pH

Compuși organici 36

Structură și chimie” • Carbohidrați • Lipide • Proteine • Acizi nucleici • Adenozin trifosfat (ATP)

Schema studiului • Întrebări de studiu 48

3

Observarea microorganismelor prin microscop 53

Unități de măsură 54

Microscopie: instrumentele 54

Microscopie ușoară • Microscopie cu doi fotoni • Microscopie acustică cu scanare • Microscopie electronică • Microscopie cu sondă scanată

Pregătirea probelor pentru microscopie ușoară 64 Pregătirea frotiurilor pentru colorare • Pete simple • Pete diferențiale • Pete speciale

Schema studiului • Întrebări de studiu 71

4 Anatomia funcțională a celulelor procariote și eucariote 75

Compararea celulelor procariote și eucariote:

O privire de ansamblu 76

CELULA PROCARIOTICĂ 76

Dimensiunea, forma și aranjarea celulelor bacteriene 77

Structuri externe peretelui celular 78

Glicocalix • Flageli • Filamente axiale • Fimbrie și Pili

Peretele celular 84

Compoziție și caracteristici • Pereții celulari și mecanismul colorației Gram • Pereții celulari atipici • Deteriorarea peretelui celular

Structuri interne peretelui celular 88

Membrana plasmatică (citoplasmatică) • Mișcarea materialelor prin membrane • Citoplasmă • Nucleoid • Ribozomi • Incluziuni • Endospori

CELULA EUCARIOTĂ 97

Flagella și Cilia 99

Peretele celular și glicocalixul 99

Membrana plasmatică (citoplasmatică) 100

Citoplasma 101

Ribozomi 101

Organele 101

Nucleul • Reticulul endoplasmatic • Complexul Golgi

Lizozomi • Vacuole • Mitocondrii • Cloroplaste

Peroxizomi • Centrozom

Evoluția eucariotelor 105

Schema studiului • Întrebări de studiu 106

Metabolismul microbian bolnav

Reacții catabolice și anabolice 112

Enzimele 113

Teoria coliziunii« Enzime și reacții chimice

Specificitatea și eficiența enzimelor • Denumirea enzimelor

Componente enzimatice • Mecanismul acțiunii enzimatice • Factori care influențează activitatea enzimatică sau inhibarea feedback-ului • Ribozime

Producția de energie 119

Reacţii de oxidare-reducere • Generarea de ATP

Căile metabolice de producere a energiei

Catabolismul carbohidraților 122

Glicoliza • Alternative la Glicoliză <» Respirația celulară

Fermentaţie

Catabolismul lipidelor și proteinelor 133

Teste biochimice și identificare a bacteriilor 135

Fotosinteza 138

Reacțiile dependente de lumină: fotofosforilarea

Reacțiile independente de lumină: ciclul Calvin-Benson

Un rezumat al mecanismelor de producere a energiei 139

Diversitatea metabolică între organisme 140

Fotoautotrofe • Fotoheterotrofe • Chimioautotrofe

Chemoheterotrofe

Căile metabolice de utilizare a energiei 144

Biosinteza polizaharidelor • Biosinteza lipidelor • Biosinteza aminoacizilor și proteinelor • Biosinteza purinelor și pirimidinelor

Integrarea metabolismului 146

Schema studiului • Întrebări de studiu 148

Creșterea microbiană 153

Cerințele pentru creștere 154

Cerințe fizice • Cerințe chimice

Biofilme 160

Mijloace de cultură 161

Medii definite chimic • Medii complexe • Medii și metode de creștere anaerobe • Tehnici speciale de cultură. Medii selective și diferențiale • Cultura de îmbogățire

Obținerea culturilor pure 167

Conservarea culturilor bacteriene 167

Creșterea culturilor bacteriene 168

Diviziunea bacteriană • Timpul generației • Reprezentarea logaritmică a populațiilor bacteriene • Fazele de creștere. Măsurarea directă a creșterii microbiene. Estimarea numerelor bacteriene prin metode indirecte

Schema studiului • Întrebări de studiu 177

7

Controlul creșterii microbiene 181

Terminologia controlului microbian 182

Rata morții microbiene 182

Acțiunile agenților de control microbian 183

Alterarea permeabilității membranei • Deteriorarea proteinelor și acizilor nucleici

Metode fizice de control microbian 185

Căldură • Filtrare • Temperaturi scăzute • Presiune ridicată

• Deshidratare • Presiune osmotică ° Radiație

Metode chimice de control microbian 190

Principiile dezinfectării eficiente • Evaluarea unui dezinfectant• Tipuri de dezinfectanți

Caracteristicile microbiene și controlul microbian 200

Schema studiului • Întrebări de studiu 203

Genetica microbiană 207

Structura și funcția materialului genetic 208

. w'notip și fenotip • ADN și cromozomi • Fluxul informațiilor genetice I Replicarea ADN • Sinteza ARN și a proteinelor

- Reglarea expresiei genelor bacteriene 218 Control pre-transcripțional • Control post-transcripțional

Mutație: modificarea materialului genetic 223

Tipuri de mutații. Mutageni • Frecvența mutațiilor. Identificarea mutanților. Identificarea substanțelor chimice (.arcinogene

Transferul genetic și recombinarea 231

Transformarea în bacterii • Conjugarea în bacterii

• Transducția în bacterii. Plasmide și transpozoni

Genele și evoluția 239

Schema studiului • Întrebări de studiu 239

Biotehnologie și ADN

Tehnologie 244

Introducere în biotehnologie 245

Tehnologia ADN recombinant • O prezentare generală a procedurilor ADN recombinant

Instrumente ale biotehnologiei 247

Selecție • Mutație • Enzime de restricție • Vectori

Reacția în lanț a polimerazei

Tehnici de modificare genetică 251

Inserarea ADN-ului străin în celule • Obținerea ADN-ului

Selectarea unei clone • Realizarea unui produs genetic

Aplicații ale tehnologiei ADN 257

Aplicații terapeutice • Proiecte de genom • Aplicații științifice • Aplicații agricole

Probleme de siguranță și etica utilizării tehnologiei ADN 266

Schema studiului • Întrebări de studiu 268

PARTEA A DOUA Un studiu asupra lumii microbiene

d < j Clasificarea

__V Microorganisme 272

Studiul relațiilor filogenetice 273

1 el Trei Domenii • O Ierarhie Filogenetică

Clasificarea organismelor 277

Nomenclatura științifică • Ierarhia taxonomică

Clasificarea Procariotelor • Clasificarea Eucariotelor

Clasificarea Virușilor

Metode de clasificare și identificare a microorganismelor 281 Caracteristici morfologice • Colorare diferențială

Teste biochimice • Serologie • Tiparea fagilor • Profiluri de acizi grași • Citometrie în flux • Compoziția bazei ADN • Amprentarea ADN • Teste de amplificare a acidului nucleic (NAAT)

Hibridarea acidului nucleic • Punerea laolaltă a metodelor de clasificare

Schema studiului • Întrebări de studiu 295

Proteobacteria 303

Alfaproteobacteria • Betaproteobacteria • Gammaproteobacteria • Deltaproteobacteria • Proteobacteria Epsilon

Bacteriile Gram-pozitive 314

Firmicutes (bacterii Gram-pozitive cu G scăzut + C)

Actinobacteriile (bacterii Gram-pozitive cu G+C ridicate)

Bacteriile Gram-negative nonproteobacterii 320 Cianobacteriile (Bacterii fotosintetice oxigenate)

Chlamydiae • Planctomycetes • Bacteroidetes

Fusobacterii 322

Bacteriile fotosintetice violet și verzi (Bacterii fotosintetice anoxigenice) • Spirochete • Deinococi

DOMENIU ARHAEA 326

Diversitatea în Arheea 326

DIVERSITATEA MICROBIANĂ 327

Descoperiri care ilustrează gama diversității 327

Schema studiului • Întrebări de studiu 328

Eucariotele: ciuperci, alge, protozoare și helminți 330

Ciuperci 331

Caracteristicile ciupercilor • ciuperci importante din punct de vedere medical

Boli fungice • Efectele economice ale ciupercilor

Licheni 342

Algele 343

Caracteristicile algelor • Filele selectate de alge « Rolurile algelor în natură

Protozoare 348

Caracteristicile protozoarelor • Protozoare importante din punct de vedere medical

Forme pentru slime 353

Helminți 354

Caracteristicile Helminths ® Platyhelminths • Nematode

Artropodele ca vectori 363

Schema studiului • Întrebări de studiu 365

Viruși, viroizi și

Prioni 369

d Procariotele: Domenii

__ Bacterii și arhee 299

Grupurile procariote 300

DOMENIU BACTERII 303

Caracteristicile generale ale virușilor 370

Interval gazdă • Dimensiunea virală

Structura virală 371 ,

Acid nucleic • Capsidă și înveliș • Morfologie generală

Taxonomia virusurilor 374

Izolarea, cultivarea și identificarea virusurilor 376 Creșterea bacteriofagelor în laborator • Creșterea virusurilor animale în laborator • Identificarea virală

Înmulțirea virală 381

Multiplicarea bacteriofagelor • Multiplicarea virusurilor animale

Viruși și cancer 392

Transformarea celulelor normale în celule tumorale

Virusuri oncogene ADN • Viruși oncogene cu ARN

Infecții virale latente 394

Infecții virale persistente 394

Prioni 395

Virușii și viroizii plantelor 395

Schema studiului • Întrebări de studiu 397

PARTEA A TREIA Interacțiunea dintre microb și gazdă

-4 A Principiile bolii

-LI și Epidemiologie 401

Patologia, infectia si boala 402

Microbiota normală 402

Relații între Microbiota Normală și Microorganismele Oportuniste Gazdă ® • Cooperarea între Microorganisme

Etiologia bolilor infecțioase 406

Postulatele lui Koch • Excepții de la postulatele lui Koch

Clasificarea bolilor infecțioase 408

Apariția unei boli • Severitatea sau durata unei boli

Gradul de implicare a gazdei

Tipare de boală 409

Factori predispozanți • Dezvoltarea bolii

Răspândirea infecției 411

Rezervoare de infecție • Transmiterea bolii

Infecții nosocomiale (dobândite în spital) 414 Microorganisme în spital • Gazdă compromisă

Lanțul de transmitere • Controlul infecțiilor nosocomiale

Boli infecțioase emergente 417

Epidemiologie 419

Epidemiologie descriptivă • Epidemiologie analitică

Epidemiologie experimentală • Raportarea cazurilor • Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC)

Schema studiului • Întrebări de studiu 424

Mecanizarea microbiană a patogenității 429

Cum intră microorganismele într-o gazdă 430

Portaluri de intrare • Portalul preferat de intrare” • Numărul de microbi invadatori • Aderarea

Cum pătrund agenții patogeni bacterieni în apărările gazdei 433 capsule • Componente peretelui celular • Enzime • Variație antigenică • Penetrare în citoscheletul celulei gazdă

Cum deteriorează agenții patogeni bacterieni celulele gazdă 436

Utilizarea nutrienților gazdei: Siderofori • Daune directe . Producția de toxine • Plasmide, lizogenie și patogenitate

Proprietățile patogene ale virusurilor 443

Mecanisme virale pentru evitarea apărărilor gazdei • Efectele citopatice ale virusurilor

Proprietăți patogene ale ciupercilor, protozoarelor, helminților și algelor 445

Ciuperci • Protozoare • Helminți • Alge

Portais de la ieșirea 446

Schema studiului • Întrebări de studiu 448

Imunitatea înnăscută: O Nqh apărările specifice ale gazdei 451

Conceptul de imunitate 452

PRIMA LINIE DE APARARE: PIELEA SI MEMBRANELE MUCOASE 453

Factori fizici 453

Factori chimici 455

Microbiota normală și imunitatea înnăscută 455

A DOUA LINIE DE APĂRARE 456

Elemente formate în sânge 456

Sistemul limfatic 458

Fagocite 460

Acțiuni ale celulelor fragocitare • Mecanismul fagocitozei • Evadarea microbiană a fagocitozei

Inflamație 463

Vasodilatația și permeabilitatea crescută a vaselor de sânge • Migrația fagocitelor și fagocitoza • Febra de reparare a țesuturilor 466

Substanțe antimicrobiene 466

Sistemul de complement - interferoni • Proteine care leagă fierul • Peptide antimicrobiene

Schema studiului • Întrebări de studiu 475

d „Imunitatea adaptativă:

— / Apărările specifice ale gazdei 478

Sistemul imunitar adaptiv 479

Natura duală a sistemului imunitar adaptativ 479

Imunitatea umorală • Imunitatea celulară

Antigeni și anticorpi 481

Natura Antigenelor • Natura Anticorpilor

Celulele B și imunitatea umorală” 485

Selecția clonală a celulelor producătoare de anticorpi

Diversitatea anticorpilor

Legarea antigen-anticorp și rezultatele acesteia 487

Celulele T și imunitatea celulară 489

Clase de celule T • Celule T Helper (celule T CD4+)

Celule reglatoare T • Celule T citotoxice (celule T CD84)

Celule prezentatoare de antigen (APC) 494

Celule dendritice • Macrofage

Uciderea extracelulară de către sistemul imunitar 495

Citotoxicitate mediată de celule dependente de anticorpi 495

Citokine: mesageri chimici ai celulelor imune 495

Memoria imunologică" 497

Tipuri de imunitate adaptativă 497

Schema studiului • Întrebări de studiu 501

d Q Aplicații practice __O de imunologie 504

Vaccinuri 505

Principii și efecte ale vaccinării • Tipuri de vaccinuri și caracteristicile acestora • Dezvoltarea de noi vaccinuri • Adjuvanți • Siguranța vaccinurilor

Diagnostic Imunologie 511

Teste de diagnosticare imunologice • Anticorpi monoclonali • Reacții de precipitare • Reacții de aglutinare • Reacții de neutralizare • Reacții de fixare a complementului • Tehnici de anticorpi fluorescenți

• Testul imunoabsorbant legat de enzime (ELISA) • Western Blotting (Imunoblotting) • Viitorul imunologiei diagnostice și terapeutice"

Schema studiului • Întrebări de studiu 524

Tulburări asociate cu sistemul imunitar 527

Hipersensibilitate 528

Reacții de tip I (anafilactice) • Reacții de tip II (citotoxice) • Reacții de tip III (complex imun)

Reacții de tip IV (întârziate mediate de celule).

Boli autoimune 536

Reacții autoimune citotoxice • Reacții autoimune complexe imune • Reacții autoimune mediate de celule

Reacții legate de complexul antigenului leucocitar uman (HLA) 538

Reacții la transplant « Imunosupresie

Sistemul imunitar și cancerul 542

Imunoterapia pentru cancer

Imunodeficiențe 543

Imunodeficienţe congenitale • Imunodeficienţe dobândite

Sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA) 545

Originea SIDA • Infecția HIV • Metode de diagnostic

Transmiterea HIV • SIDA la nivel mondial • Prevenirea și tratarea SIDA • Epidemia SIDA și importanța cercetării științifice

Schema studiului • Întrebări de studiu 554

Istoria chimioterapiei 559

Descoperirea antibioticelor' Astăzi

Spectrul activității antimicrobiene 560

Acțiunea medicamentelor antimicrobiene 561

Inhibarea sintezei peretelui celular • Inhibarea sintezei proteinelor

Lezarea membranei plasmatice | Inhibarea sintezei acidului nucleic • Inhibarea sintezei metaboliților esențiali

Un studiu asupra medicamentelor antimicrobiene utilizate în mod obișnuit 564
Antibiotice antibacteriene: inhibitori ai sintezei peretelui celular

Antibiotice antimicobacteriene • Inhibitori ai sintezei proteinelor • Leziuni ale membranei plasmatice • Inhibitori ai sintezei acidului nucleic (ADN/ARN) • Inhibitori competitivi ai sintezei metaboliților esențiali

Medicamente antifungice • Medicamente antivirale • Medicamente antiprotozoare și antihelmintice

Teste pentru a ghida chimioterapia 577

Difuzia ^Metode • Teste de diluare a bulionului

Rezistența la medicamentele antimicrobiene 579

Mecanisme de rezistență • Utilizarea abuzivă a antibioticelor | Costul și prevenirea rezistenței

Siguranța antibioticelor 584

Efectele combinațiilor de medicamente 584

Viitorul agenților chimioterapeutici 584

Schema studiului • Întrebări de studiu 585

PARTEA A PATRA Microorganismele și bolile umane

Boli microbiene ale pielii și ochilor 1 589

Structura și funcția pielii 590

Membrane mucoase

Microbiota normală a pielii 591

Boli microbiene ale pielii 591

Boli bacteriene ale pielii • Boli virale ale pielii

Boli fungice ale pielii și unghiilor • Infestarea parazitară a pielii

Boli microbiene ale ochiului 609

Inflamația membranelor oculare: conjunctivită

Boli bacteriene ale ochiului • Alte boli infecţioase ale ochiului

Schema studiului • Întrebări de studiu 611

Boli microbiene ale sistemului Nenrous 615

Structura și funcția sistemului nervos 616

Boli bacteriene ale sistemului nervos 617

Meningita bacteriana • Tetanos • Botulism • Lepra

Boli virale ale sistemului nervos 626

Poliomielita • Rabia • Encefalita arbovirală

Boala fungică a sistemului nervos 632

Cryptococcus neoformans Meningita (Criptococoza)

Bolile protozoare ale sistemului nervos 633

Tripanosomiaza africană • Meningoencefalită amebiană

Boli ale sistemului nervos cauzate de prioni 636

Encefalopatia spongiformă bovină și varianta bolii Creutzfeldt-Jakob

Boală cauzată de agenți neidentificați 638

Sindromul de oboseală cronică

Schema de studiu * Întrebări de studiu 639

OQ Boli microbiene ale

Sistemul cardiovascular și limfatic 643

Structura și funcția sistemului cardiovascular și limfatic 644

Boli bacteriene ale sistemului cardiovascular și limfatic 645

Sepsis și șoc septic • Infecții bacteriene ale inimii

• Febră reumatică • Tularemie • Bruceloză (febră ondulantă) ® Antrax ° Gangrenă • Boli sistemice cauzate de mușcături și zgârieturi • Boli cu transmitere vectorială

Boli virale ale sistemului cardiovascular și limfatic 662

Limfom Burkitt • Mononucleoza infectioasa • Altele

Boli și virusul Epstein-Barr • Infecții cu citomegalovirus • Febră Chikungunya • Febre hemoragice virale clasice • Febre hemoragice virale emergente

Bolile protozoare ale sistemului cardiovascular și limfatic 666

Boala lui Chagas (tripanosomiaza americană)

o Toxoplasmoza • Malaria • Leishmanioza • Babezioza

Boli helmintice ale sistemului cardiovascular și limfatic 673

Schistosomiasis • Mâncărime înotătorului

Schema studiului • Întrebări de studiu 676

Boli microbiene ale sistemului respirator Z-x 680

ctu egn uncția sistemului respirator 681 microbiota orală a sistemului respirator 682

' □ ': BOLI BIAL ALE SISTEMULUI RESPIRATOR SUPERIOR 682

Boli bacteriene ale sistemului respirator superior 683 Faringita streptococică (faringita streptococică). Scarlatina • Difterie . Otita medie

Boala virală a sistemului respirator superior 685

Răceala comună

BOLI MICROBIENE ALE APARATULUI RESPIRATORII INFERIOR 687

Boli bacteriene ale sistemului respirator inferior 687 Pertussis (tuse convulsivă)9 Tuberculoză • Pneumonii bacteriene • Melioidoză

Boli virale ale sistemului respirator inferior 697 Pneumonie virală . Virusul respirator sinciţial (RSV)

Gripa (gripa)

Boli fungice ale sistemului respirator inferior 702 Histoplasmoza • Coccidioidomicoza • Pneumonia cu pneumocystis • Blastomicoza (Blastomicoza din America de Nord) • Alte ciuperci implicate in bolile respiratorii

Schema studiului • Întrebări de studiu 707

Boli microbiene ale sistemului digestiv 711

Structura şi funcţia sistemului digestiv 712

Microbiota normală a sistemului digestiv 712

Boli bacteriene ale gurii 713

Cariile dentare (cariile dentare) • Boala parodontala

Boli bacteriene ale sistemului digestiv inferior 716 Intoxicaţii alimentare cu stafilococ (enterotoxicoză stafilococică) • Shigeloza (dizenterie bacilară)

Salmoneloză (Gastroenterita cu Salmonella) • Febră tifoidă • ('holera • Vibrios noncholeric • Gastroenterită cu Escherichia coli • Gastroenterită cu Campylobacter

Boala Ulcerului Peptic Helicobacter • Gastroenterita Yersinia

Clostridium perfringens Gastroenterita • Diaree asociată cu Clostridium difficile • Bacillus cereus Gastroenterita

Boli virale ale sistemului digestiv 727

Oreion • Hepatită • Gastroenterită virală

Boli fungice ale sistemului digestiv 735

Intoxicatia cu ergot • Otrăvirea cu aflatoxină

Boli protozoare ale sistemului digestiv 736 (iiardioză • Criptosporidioză • Infecție diareică cu ciclosporă • Dizenterie amebiană (Amebiaza)

Boli helmintice ale sistemului digestiv 738 viermi fape • Boala hidatică • Nematode

Structura de studiu • Întrebări de studiu 744

Boli microbiene ale sistemului urinar și reproductiv 749

Structura și funcția sistemului urinar 750

Structura și funcționarea sistemelor reproductive 750 Microbiota normală a sistemului urinar și reproductiv 751

BOLI ALE APARATULUI URINAR 752

Boli bacteriene ale sistemului urinar 752

Cistită • Pielonefrită • Leptospiroză

BOLI ALE APARATULUI REPRODUCTIV 754

Boli bacteriene ale aparatului reproductiv 754 Gonoree • Uretrita nongonococică (NGU) • Boală inflamatorie pelvină (BIP) • Sifilis • Limfogranulom venereum (LGV) • Chancroid (chancru moale) • Vaginoză bacteriană

Boli virale ale sistemelor de reproducere 763

Herpes genital • Negi genitali • SIDA

Bolile fungice ale aparatului de reproducere 765 Candidoza

Boala protozoare a sistemelor de reproducere 766 Trichomoniaza • Panelul de teste TORCH

Schița de studiu I Întrebări de studiu 768

PARTEA A cincea Microbiologie de mediu și aplicată

Q „7 Microbiologia mediului 772

Diversitatea microbiană și habitate 773

Simbioză

Microbiologia solului și ciclurile biogeochimice 774

Ciclul carbonului • Ciclul azotului • Ciclul sulfului • Viața fără soare • Ciclul fosforului • Degradarea substanțelor chimice sintetice din sol și apă

Microbiologie acvatică și tratare a apelor uzate 782

Microorganisme acvatice • Rolul microorganismelor în calitatea apei” • Tratarea apei • Tratarea apelor uzate (ape uzate)

Schema studiului • Întrebări de studiu 795

Aplicat și Industrial

Microbiologie 799

Microbiologia alimentelor 800

Alimente și boli • Conservare industrială a alimentelor • Ambalare aseptică • Radiații și conservare industrială a alimentelor

Conservarea alimentelor la presiune înaltă • Rolul microorganismelor în producția de alimente

Microbiologie industrială 807

Tehnologia fermentației • Produse industriale

Surse alternative de energie folosind microorganisme

Biocombustibili • Microbiologia industrială și viitorul

Schema studiului • Întrebări de studiu 815

Răspunsuri la revizuire și alegere multiplă

Întrebări de studiu AN-1

Anexa A Căi metabolice AP-1

Anexa B Exponenți, Notație exponențială,

Logaritmi și generație :me AP-7

Anexa C Metode de administrare clinică

Probele AP-8

Anexa D Pronunțarea numelor științifice AP-9

Anexa E Rădăcinile cuvintelor pe care le-am introdus

Microbiologie AP-13

Anexa F Clasificarea procariotelor conform manualului lui Bergey AP-16

Glosar Gl

Credite Cl

Index 1-1

CARACTERISTICI

FIGURI DE FUNDARE

Figura 1.3 Infirmarea teoriei spontaneului

Generația a 9-a

Figura 2.16 Structura ADN-ului 46

Figura 3.2 Microscoape și mărire 58

Figura 4.6 Structura unei celule procariote 79

Figura 5.11 O privire de ansamblu asupra respirației și fermentației 123

Figura 6.15 Înțelegerea curbei de creștere a bacteriilor 170

Figura 7.1 Înțelegerea curbei morții microbiene 184

Figura 8.2 Fluxul de informații genetice 210

Figura 9.1 O procedură tipică de modificare genetică 246

Figura 10.1 Sistemul cu trei domenii 274

Figura 12.1 Explorarea eucariotelor patogene 331

Figura 13.15 Replicarea unui ADN care conține

Virusul animal 387

Figura 14.3 Postulatele lui Koch: înțelegerea bolii 407

Figura 15.4 Mecanismele exotoxinelor și endotoxinelor 437

Figura 15.9 Mecanisme microbiene de patogenitate 447

Figura 16.7 Fazele fagocitozei 461

Figura 16.9 Rezultatele activării complementului 468

Figura 17.20 Natura duală a sistemului imunitar adaptiv 500

Figura 18.2 Producția de anticorpi monoclonali 513

Figura 19.16 Progresia infecției cu HIV 548

Figura 20.2 Moduri majore de acțiune ale medicamentelor antimicrobiene 561

Figura 20.20 Rezistența bacteriană la antibiotice 580

FIGURI CICLU DE VIAȚĂ

Figura 11.11 Ciclul de viață al Myxococcales 313

Figura 11.22 Ciclul de viață al Chlamydias 323

Figura 12.7 Ciclul de viață al Rhizopus, un zigomicet 336

Figura 12.8 Ciclul de viață al encefalitozoonului,

un Microsporidian 337

Figura 12.9 Ciclul de viață al Talaromyces, un Ascomicet 338

Figura 12.10 Un ciclu de viață generalizat al unui bazidiomicet 339

Figura 12.13 Algele verzi 345

Figura 12.16 Oomycotes 347

Figura 12.20 Ciclul de viață al Plasmodium vivax 352

Figura 12.22 Ciclul de viață generalizat al unei celule

Mucegai pentru slime 354

Figura 12.23 Ciclul de viață al unui mucegai plasmodial 355

Figura 12.26 Ciclul de viață al Fluke pulmonar,

Paragonimus spp. 359

Figura 12.28 Ciclul de viață al teniei,

Echinococcus spp. 361

Figura 23.14 Ciclul de viață al vectorului căpușă din Lyme

Boala 659

Figura 23.17 Ciclul de viață al vectorului căpușă (Dermacentor spp.) din Rocky Mountain Spotted Fever 661

Figura 23.24 Ciclul de viață al Toxoplasma gondii 669

Figura 23.28 Schistosomiaza 674

Figura 24.18 Ciclul de viață al Coccidioides immitis 703

Figura 24.20 Ciclul de viață al Pneumocystis jirovecii 705

Figura 25.26 > Ciclul de viață al Trichinella spiralis 743

FOCUS CLINIC

Tuberculoza umană — Dallas, Texas 142

Infecție după injectarea cu steroizi 198

Urmărirea virusului West Nile 220

Norovirus – Cine este responsabil pentru focar? 265

Cea mai frecventă cauză a diareei de recreere pe bază de apă 357

Gripa: traversarea barierei speciilor 374

Infecții nosocomiale 423

O problemă de sănătate mondială 510

O erupție cutanată întârziată 537

Antibioticele din hrana animalelor legate de bolile umane 583

Infecții în sala de sport 598

O boală neurologică 631

Un copil bolnav 651

Focar 698 .

O infecție alimentară 721

Supraviețuirea celui mai potrivit 757

APLICAȚII ALE MICROBIOLOGIEI

Jeans de designer: fabricați de microbi? 3

Bioremediere – Bacteriile curăță poluarea 32

Ce este acel Slime? 56

De ce microbiologii studiază termitele 106

Ce este fermentația? 134

Viața la extrem – Grăjile hidrotermale 157

Decese în masă ale mamiferelor marine Spur Veterinary'

Microbiologie 282

Sexul cu bacterii și insecte 308

Streptococul: dăunător sau util? 434

Colecția de ser 472

Interleukin-12: Următorul „glonț magic”? 499

Protecția împotriva bioterorismului 654

O sursă de sânge sigură 733

Biosenzori: bacterii care detectează poluanți și agenți patogeni 786

De la boala plantelor la șampon și sos de salată 808

BOLI ÎN FOCUS

Erupții cutanate maculare 594

Erupții veziculare și pustuloase 596

Roșeață neregulată și stări asemănătoare coșurilor 597

Boli microbiene ale ochiului 609

Meningită și encefalită 623

Tipuri de encefalită arbovirală 634

Boli microbiene cu simptome neurologice

sau Paralizia 638

Infecții din rezervoare umane 649

Infecții din rezervoare animale transmise prin Direct

Contactați 655

Infectii transmise de \eclors 656

Febre hemoragice virale 667

Infecții transmise prin sol și apă 673

Boli microbiene ale sistemului respirator superior 686

Pneumonii bacteriene comune 695

Boli microbiene ale sistemului respirator inferior 706

Boli bacteriene ale gurii 716

Boli bacteriene ale sistemului digestiv inferior 728

Caracteristicile hepatitei virale 731

Boli virale ale sistemului digestiv 736

Boli fungice, protozoare și helmintice ale zonei inferioare

Sistemul digestiv 740

Boli bacteriene ale sistemului urinar 753

Caracteristicile celor mai frecvente tipuri de vaginită și

Vaginoza 766

Boli microbiene ale sistemelor de reproducere 767

Lumea microbiană și tu

T

Tema generală a acestui manual este relația dintre microbi (organisme foarte mici care de obicei necesită un microscop pentru a fi văzute) și viața noastră. Această relație implică nu numai efectele nocive familiare ale anumitor microorganisme, cum ar fi bolile și alterarea alimentelor, ci și numeroasele lor efecte benefice. În acest capitol vă prezentăm câteva dintre numeroasele moduri în care microbii ne afectează viața. Microbii au fost subiecte de studiu fructuoase de mulți ani. Începem prin a vă prezenta cum sunt numite și clasificate organismele, urmată de o scurtă istorie a microbiologiei care dezvăluie cât de multe am învățat în doar câteva sute de ani. Apoi discutăm despre diversitatea incredibilă a

microorganismelor și importanța lor ecologică, observând modul în care acestea mențin echilibrul în mediu prin reciclarea elementelor chimice precum carbonul și azotul în sol, organisme și atmosferă. De asemenea, examinăm modul în care microbii sunt utilizați în aplicații comerciale și industriale pentru a produce alimente, substanțe chimice și medicamente (cum ar fi antibioticele); și pentru tratarea apelor uzate, controlul dăunătorilor și curățarea poluanților. Vom discuta despre microbi ca cauze ale unor boli precum gripa aviară (pasăre), encefalita West Nile, boala vacii nebune, diareea, febra hemoragică și SIDA. Vom examina, de asemenea, problema crescândă de sănătate publică a bacteriilor rezistente la antibiotice. Bacteriile Staphylococcus aureus de pe celulele epiteliale nazale umane sunt prezentate în pnotograf. Aceste bacterii trăiesc inofensiv pe piele sau în interiorul nasului. Utilizarea greșită a antibioticelor permite supraviețuirea bacteriilor cu gene rezistente la antibiotice, cum ar fi S. aureus rezistent la meticilină (MRSA). După cum este ilustrat în Cazul Clinic, o infecție cauzată de aceste bacterii este rezistentă la tratamentul cu antibiotice.

Microbii în viețile noastre

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

1-1 Enumerați câteva moduri în care microbii ne afectează viața.

Pentru mulți oameni, cuvintele germeni și microbi aduc în minte un grup de creaturi minuscule care nu se încadrează în niciuna dintre categoriile din acea întrebare veche, „Este animal, vegetal sau mineral?” Microbii, numiți și microorganisme, sunt niște viețuitoare minuscule, care individual sunt de obicei prea mici pentru a fi văzute cu ochiul liber. Grupul include bacterii (Capitolul 11), ciupercile (drojdii și mucegaiuri), protozoare și alge microscopice (Capitolul 12). Include, de asemenea, viruși, acele entități noncelulare considerate uneori a fi călare la granița dintre viață și non-viață (Capitolul 13). Veți fi prezentat în scurt timp la fiecare dintre aceste grupuri de microbi.

Avem tendința de a asocia aceste organisme mici doar cu boli majore precum SIDA, infecții incomode sau neplăceri comune precum alimentele stricate. Cu toate acestea, majoritatea microorganismelor ajută de fapt la menținerea echilibrului organismelor vii și al substanțelor chimice din mediul nostru. Microorganismele marine și de apă dulce formează baza lanțului trofic din oceane, lacuri și râuri. Microbii din sol ajută la descompunerea deșeurilor și la încorporarea gazului de azot din aer în compuși organici, reciclând astfel elementele chimice dintre sol, apă, viață și aer. Anumiți microbi joacă un rol important în fotosinteză, un proces de generare a alimentelor și a oxigenului care este esențial pentru viața pe Pământ. Oamenii și multe alte animale depind de microbii din intestine pentru digestie și sinteza unor vitamine de care corpul lor le necesită, inclusiv unele vitamine B pentru metabolism și vitamina K pentru coagularea sângelui.

Microorganismele au, de asemenea, multe aplicații comerciale. Ele sunt utilizate în sinteza unor astfel de produse chimice precum

Caz clinic: O simplă mușcătură de păianjen?

Andrea este o studentă de 22 de ani, în mod normal sănătoasă, care locuiește acasă cu mama și sora ei mai mică, o gimnastă de liceu. Încearcă să lucreze la o lucrare pentru cursul ei de psihologie, dar îi este greu pentru că o răni roșie și umflată la încheietura mâinii drepte îi îngreunează tastarea. „De ce nu se vindecă această mușcătură de păianjen?” se întreabă ea.

„Este acolo de zile întregi!” Își face o programare la medicul ei pentru a-i putea arăta leziunea dureroasă. Deși Andrea nu are febră, ea are un număr crescut de globule albe care indică o infecție bacteriană. Medicul Andreei bănuiește că aceasta nu este deloc o mușcătură de păianjen, ci o infecție cu stafilococ. El prescrie un (antibiotic 3-lactamic, cefalosporină. Aflați mai multe despre dezvoltarea bolii Andreei în paginile următoare.

Ce este stafilococul? Citiți mai departe pentru a afla.

vitamine, acizi organici, enzime, a.cooli și multe medicamente. De exemplu, microbii sunt utilizați pentru a produce acetonă și butanol, iar vitaminele B2 (riboflavină) și B12 cobalamină) sunt produse biochimic. Procesul prin care microbii produc acetonă și butanol a fost descoperit în 1914 de Chaim Weizmann, un chimist de origine rusă care lucra în Anglia. Odată cu izbucnirea Primului Război Mondial în august a acelui an, producția de acetonă a devenit foarte importantă pentru fabricarea corditei (o formă fără fum de praf de pușcă folosită în muniții). Descoperirea lui Weizmann a jucat un rol semnificativ în determinarea rezultatului războiului.

Industria alimentară folosește, de asemenea, microbi în producerea, de exemplu, de oțet, varză murată, murături, sos de soia, brânză, iaurt, pâine și băuturi alcoolice. În plus, enzimele din microbi pot fi acum manipulate pentru a determina microbii să producă substanțe pe care în mod normal nu le sintetizează, inclusiv celuloză, ajutoare digestive și substanțe de curățare a scurgerilor, plus substanțe terapeutice importante, cum ar fi insulina. Este posibil ca enzimele microbiene chiar să fi ajutat la producerea perechii de blugi preferate (vezi caseta de la pagina 3).

Deși doar o minoritate de microorganisme sunt patogene (producătoare de boli), cunoștințele practice despre microbi sunt necesare pentru medicină și științele aferente sănătății. De exemplu, lucrătorii din spitale trebuie să fie capabili să protejeze pacienții de microbii comuni care sunt în mod normal inofensivi, dar reprezintă o amenințare pentru bolnavi și răniți.

Astăzi înțelegem că microorganismele se găsesc aproape peste tot. Cu toate acestea, nu cu mult timp în urmă, înainte de inventarea microscopului, microbii erau necunoscuți oamenilor de știință. Mii de oameni au murit în epidemii devastatoare, ale căror cauze nu au fost înțelese. Familii întregi au murit deoarece vaccinurile și antibioticele nu erau disponibile pentru a lupta împotriva infecțiilor.

Ne putem face o idee despre modul în care conceptele noastre actuale de microbiologie s-au dezvoltat analizând câteva repere istorice în microbiologie care ne-au schimbat viețile. În

primul rând, însă, ne vom uita la grupurile majore de microbi și la modul în care sunt denumiți și clasificați.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Descrieți câteva dintre acțiunile distructive și benefice ale microbilor. 1-1*

Denumirea și clasificarea microorganismelor

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

1-2 Recunoașteți sistemul de nomenclatură științifică care folosește două nume: un gen și un epitet specific.

1-3 Diferențiază caracteristicile majore ale fiecărui grup de microorganisme.

1-4 Enumerați cele trei domenii.

Următoarele numere (la naiba întrebările dvs. de înțelegere se referă la obiectivele de învățare corespunzătoare.

Jeans de designer: fabricați de microbi?

Blugii din denim au devenit din ce în ce mai populari încă de la Levi

Strauss și Jacob Davis le-au făcut pentru mineri de aur din California în 1873. Acum, companiile care produc blugi se îndreaptă către microbiologie pentru a dezvolta metode de producție ecologice care să reducă la minimum deșeurile toxice și costurile asociate.

Spălarea pietrei?

Un denim mai moale, numit „stone-washed”, a fost introdus în anii 1980. Enzimele, numite celulaze, din ciuperca Trichoderma sunt folosite pentru a digera o parte din celuloza din bumbac, înmoaie astfel și dând aspectul spălat cu pietre. Spre deosebire de multe reacții chimice, enzimele funcționează de obicei la temperaturi și pH sigure. Mai mult, enzimele sunt proteine, deci sunt ușor degradate pentru a fi îndepărtate din apele uzate.

Țesătură

Producția de bumbac necesită suprafețe mari de pământ, pesticide și îngrășăminte, iar randamentul culturii depinde de vreme. Cu toate acestea, bacteriile pot produce atât bumbac, cât și poliester, cu un impact mai mic asupra mediului. Bacteriile Gluconacetobacterxylinus produc celuloză prin atașarea unităților de glucoză la lanțuri

simple din membrana exterioară a peretelui celular bacterian. Microfibrilele de celuloză sunt extrudate prin porii din membrana exterioară, iar mănunchiurile de microfibrile se răsucesc apoi în panglici.

Albire

Peroxidul este un agent de albire mai sigur decât clorul și poate fi îndepărtat cu ușurință din țesătură și apa reziduală de către enzime. Cercetătorii de la Novo Nordisk Biotech au clonat o genă de peroxidază de ciuperci în drojdie și au crescut drojdiile în condiții de mașină de spălat. Drojdiile care au supraviețuit mașinii de spălat au fost alese ca producători de peroxidază.

Indigo

Sinteza chimică a indigoului necesită un pH ridicat și produce deșeuri care explodează în contact cu aerul. Cu toate acestea, o companie de biotehnologie din California, Genencor, a dezvoltat o metodă de a produce indigo prin utilizarea bacteriilor. Cercetătorii au identificat o genă dintr-o bacterie din sol, Pseudomonas putida, pentru conversia produsului secundar bacterian indol în indigo. Această genă a fost introdusă în bacteria Escherichia coli, care apoi a devenit albastră.

Bioplastic

Microbii pot face chiar și fermoare și ambalaje din plastic

Nomenclatură

„Sistemul de nomenclatură (numire) pentru organismele utilizate astăzi a fost stabilit în 1735 de Carolus Linnaeus. Numele științifice sunt latinizate deoarece latină era limba folosită în mod tradițional de savanți. Nomenclatura științifică atribuie fiecărui organism două nume — genul (plural: genuri) este prenumele și este întotdeauna scris cu majuscule; urmează epitetul specific (numele speciei) și nu este scris cu majuscule. „La organism se face referire atât prin gen, cât și prin epitetul specific, iar ambele nume sunt subliniate sau italice. Prin obicei, după ce un nume științific a fost menționat o dată, acesta poate fi abreviat cu inițiala genului urmată de epitetul specific.

Numele științifice pot, printre altele, să descrie un organism, să onoreze un cercetător sau să identifice habitatul unei specii. De exemplu, luați în considerare Staphylococcus aureus (staf-i-lo-kok'kus 6're-us), o bacterie întâlnită frecvent pe pielea umană. Staphylo- descrie aranjamentul grupat al celulelor; coccus indică faptul că au forma unor sfere. „Epitetul specific, aureus, este latină pentru auriu, culoarea multor colonii ale acestei bacterii. „Genul

bacteriei Escherichia coli (esh-e-rik'-ea ko'li sau ko'le) poartă numele unui om de știință, Iheodor Escherich, în timp ce epitetul său specific, coli, ne amintește că E. coli trăiește în colon sau intestinul gros. Tabelul 1.1 conține mai multe exemple.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

*I/** Deosebesc un gen de un anumit epitet. 1 -2*

Tipuri de microorganisme

Clasificarea și identificarea microorganismelor este discutată în Capitolul 10. Iată o prezentare generală a grupurilor majore.

Bacteriile

Bacteriile (singular: bacterie) sunt organisme relativ simple, unicelulare (unicelulare). Pentru că materialul lor genetic nu este

TABELUL 1.7 Familiarizarea numelor științifice

Utilizați ghidul pentru rădăcinile cuvintelor din Anexa E pentru a afla ce înseamnă numele. Numele nu va părea atât de ciudat dacă îl traduceți. Când întâlniți un nume nou, exersați-l rostiți cu voce tare. Pronunția exactă nu este la fel de importantă ca familiaritatea pe care o vei câștiga. Îndrumările pentru pronunție sunt date în Anexa D.

Următoarele sunt câteva exemple de nume microbiene pe care le puteți întâlni în presa populară, precum și în laborator.

închise într-o membrană nucleară specială, celulele bacteriene sunt numite procariote (pro-karze-6ts), din cuvintele grecești care înseamnă prenucleu. Procariotele includ atât bacterii, cât și arheile.

Celulele bacteriene apar în general într-una din mai multe forme. Bacilul (bă-silTus) (asemănător cu tijă), ilustrat în Figura 1.1a, cocul (kok kus) (sferic sau ovoid) și spirală (tibușon sau curbat) sunt printre cele mai comune forme, dar unele bacterii sunt în formă de stea sau pătrate (vezi figurile 4.1 până la 4.5, paginile 77-78). Bacteriile individuale pot forma perechi, lanțuri, grupuri sau alte grupări; astfel de formațiuni sunt de obicei caracteristice unui anumit gen sau specie de bacterii.

Bacteriile sunt închise în pereții celulari care sunt în mare parte compusi dintr-un complex de carbohidrați și proteine numit peptidoglican. (Dimpotrivă, celuloza este principala substanță a pereților celulelor vegetale și algelor.) Bacteriile se reproduc în general prin împărțirea în două celule egale; Acest proces se numește fisiune binară. Pentru nutriție, majoritatea bacteriilor folosesc substanțe chimice organice, care în natură pot fi derivate fie din organisme moarte, fie din organisme vii. Unele bacterii pot manu- ■-. • .. . . Dețin hrana prin fotosinteză, iar unele pot obține hrana din substanțe anorganice. Multe bacterii pot înota” folosind anexe în mișcare numite flageli. (Pentru o discuție completă despre bacterii, vezi capitolul 11).

Archaea

La fel ca bacteriile, arheile (ar'ke-a) constau din celule procariote, dar dacă au pereți celulari, pereții sunt lipsiți de peptidoglican. Arheele, adesea găsite în medii extreme, sunt împărțite în trei grupuri principale. Metanogenii produc metan ca produs rezidual din respirație. Halofilii extremi (halo — sare; philic — iubitor) trăiesc în medii extrem de sărate, cum ar fi Marele Lac Sărat și Marea Moartă. Termofilii extremi (term — căldură) trăiesc în apă fierbinte sulfuroasă, cum ar fi izvoarele termale din Parcul Național Yellowstone. Nu se știe că arhea provoacă boli la oameni.

ciuperci

Ciupercile (singular: ciuperca) sunt eucariote (yu-kar'e-ots), organisme ale căror celule au un nucleu distinct care conține materia genetică a celulei. (ADN), înconjurat de un înveliș special numit membrană nucleară. Organismele din Regat Ciupercile pot fi unicelulare sau multicelulare (vezi Capitolul 12, pagina 331). Ciupercile multicelulare mari, cum ar fi ciupercile, pot arăta oarecum ca plantele, dar spre deosebire de majoritatea plantelor, ciupercile nu pot efectua fotosinteza. 1 rue I ungi au pereții celulari alcătuiți în principal dintr-o substanță. ai condus chitina. Formele unicelulare de ciuperci, drojdiile, sunt microorganisme ovale care sunt mai mari decât bacteriile. Cele mai tipice ciuperci sunt mucegaiurile (Figura I b). Mucegaiurile formează mase vizibile numite micelii, care sunt compuse din filamente lungi (hife) care se ramifică și se împletesc. Creșterile de bumbac găsite uneori pe pâine și fructe sunt micelii de mucegai. Ciupercile se pot reproduce sexual sau asexuat. Ei obțin hrană prin absorbția soluțiilor de material organic din mediul lor - indiferent dacă este sol, apă de mare, apă dulce sau o gazdă animală sau vegetală. Organismele numite mucegaiuri slime au caracteristici atât ale ciupercilor, cât și ale amibelor. Ele sunt discutate în detaliu în capitolul 12.

Protozoare

Protozoarele (singular: protozoare) sunt microbi eucarvotici unicelulari (vezi capitolul 12, pagina 34«). Protozoarele se deplasează prin pseudopode flagele sau cili. Amebae (Figura i.ic) se deplasează folosind extensii ale citoplasmei lor numite

pseudopode (picioare false). Alte protozoare au flagele lungi sau numeroase apendice mai scurte pentru locomoție

numite cili. Protozoarele au o varietate de forme și trăiesc fie ca entități libere, fie ca paraziți (organisme care obțin nutrienți din gazdele vii) care absorb sau ingerează compuși organici din mediul lor. Unele protozoare, cum ar fi Euglena, sunt fotosintetice. Ei folosesc lumina ca sursă de energie și dioxidul de carbon ca sursă principală de carbon pentru a produce zaharuri. Protozoarele se pot reproduce sexual sau asexuat.

Algele

Algele (singular: alga) sunt eucariote fotosintetice cu o mare varietate de forme și forme de reproducere atât sexuale, cât și asexuate (Figura l.ld). Algele de interes pentru microbiologi sunt de obicei unicelulare (vezi capitolul 12, pagina 343). Pereții celulari ai multor alge sunt alcătuiți dintr-un carbohidrat numit celuloză. Algele sunt abundente în apa dulce și sărată, în sol și în asociere cu plantele. Ca fotosintetizatoare, algele au nevoie de lumină, apă și dioxid de carbon pentru producerea și creșterea alimentelor, dar în general nu necesită compuși organici din mediu. Ca rezultat al fotosintezei, algele produc oxigen și carbohidrați care sunt apoi utilizați de alte organisme, inclusiv animale. Astfel, ele joacă un rol important în echilibrul naturii.

Viruși

Virușii (Figura l.le) sunt foarte diferiți de celelalte grupe microbiene menționate aici. Sunt atât de mici încât majoritatea pot fi văzute doar cu un microscop electronic și sunt acelulare (nu celulare). Foarte simplu din punct de vedere structural, o particulă de virus conține un miez format dintr-un singur tip de acid nucleic, fie ADN, fie ARN. Acest miez este înconjurat de un înveliș proteic, care uneori este învelit de o membrană lipidică numită plic. Toate celulele vii au ARN și ADN, pot desfășura reacții chimice și se pot reproduce ca unități autonome. Virușii se pot reproduce numai prin utilizarea mașinilor celulare ale altor organisme. Astfel, pe de o parte, virușii sunt considerați a fi vii numai atunci când se înmulțesc în celulele gazdă pe care le infectează. În acest sens, virușii sunt paraziți ai altor forme de viață. Pe de altă parte, virușii nu sunt considerați vii, deoarece sunt inerți în afara gazdelor vii. (Virușii vor fi discutați în detaliu în capitolul 13.)

Paraziți multicelulari ai animalelor

Deși paraziții animale multicelulare nu sunt strict microorganisme, ei au importanță medicală și, prin urmare, vor fi discutați în acest text. Paraziții animale sunt eucariote, „cele două grupuri majore de viermi paraziți sunt viermii plati și viermii rotunzi, numiți colectiv helminți (vezi capitolul 12, pagina 354). În unele etape ale ciclului lor de viață, helminții au dimensiuni microscopice. Identificarea de laborator a acestor organisme include multe dintre aceleași tehnici utilizate pentru identificarea microbilor.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce grupuri de microbi sunt procariote? Care sunt eucariotele? 1-3

Clasificarea microorganismelor Mi

Înainte de a fi cunoscută existența microbilor, toate organismele au fost grupate fie în regnul animal, fie în regnul vegetal. Când organisme microscopice cu caracteristici de animale și plante au fost descoperite la sfârșitul secolului al XVII-lea, a fost nevoie de un nou sistem de clasificare. Cu toate acestea, biologii nu au putut cădea de acord asupra criteriilor de clasificare a acestor noi organisme până la sfârșitul anilor 1970.

În 1978, Carl Woese a conceput un sistem de clasificare bazat pe organizarea celulară a organismelor. Ea grupează toate organismele în trei domenii, după cum urmează:

Bacterii (pereții celulari conțin un complex proteină-carbohidrați numit peptidoglican)

Arheea (pereții celulari, dacă sunt prezenti, nu au peptidoglican)

Eukarya, care include următoarele:

® Brotists (mucegaiuri de slime, protozoare și alge)

o Ciuperci (drojdii unicelulare, mucegaiuri multicelulare și ciuperci)

Plante (mușchi, ferigi, conifere și plante cu flori)

Animale (bureți, viermi, insecte și vertebrate)

Clasificarea va fi discutată mai detaliat în capitolele 10 până la 12. .

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care sunt cele trei domenii? 1 -4

O scurtă istorie a microbiologiei

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

1-5 Explicați importanța observațiilor făcute de Hooke și van Leeuwenhoek.

1-6 Comparați generarea spontană și biogeneza.

7 Identificați contribuțiile la microbiologie făcute de Needham, Spallanzani, Virchow și Pasteur.

1 -8 Explicați modul în care opera lui Pasteur i-a influențat pe Lister și Koch.

1-9 Identificați importanța postulatelor lui Koch.

1-10 Identificați importanța muncii lui Jenner.

1-11 Identificați contribuțiile la microbiologie făcute de Ehrlich și Fleming.

1-12 Definiți bacteriologia, micologia, parazitologia, imunologia și virologia.

1-13 Explicați importanța geneticii microbiene și a biologiei moleculare.

Știința microbiologiei datează de doar 200 de ani, dar recenta descoperire a ADN-ului Mycobacterium tuberculosis (mi-ko-bak-ti're-um tu-ber-ku-16'sis) în mumiile egiptene vechi de 3000 de ani ne amintește că microorganismele există de mult mai mult timp. De fapt, strămoșii bacterieni au fost primele celule vii care au apărut pe Pământ. Deși știm relativ puține despre ce credeau oamenii mai devreme despre cauzele, transmiterea și tratamentul bolilor, știm mai multe despre istoria ultimelor câteva sute de ani. Să ne uităm acum la câteva evoluții cheie în microbiologie care au stimulat domeniul la starea sa tehnologică actuală.

Primele observații

Una dintre cele mai importante descoperiri în biologie a avut loc în 1665. După ce a observat o felie subțire de plută printr-un microscop relativ brut, un englez, Robert Hooke, a raportat lumii că cele mai mici unități structurale ale vieții sunt „cutii mici” sau „celule”, după cum le-a numit el. celulele individuale Descoperirea lui Hooke a marcat începutul teoriei celulare – teoria conform căreia toate lucrurile vii sunt compuse din celule Investigațiile ulterioare asupra structurii și funcției celulelor s-au bazat pe această teorie.

Deși microscopul lui Hooke era capabil să arate celule mari, nu avea rezoluția care i-ar fi permis să vadă clar microbii. Comerciantul și om de știință amator olandez Anton van Leeuwenhoek a fost probabil primul care a observat efectiv microorganisme vii prin lentilele de mărire a peste 400 de microscoape pe care le-a construit. Între 1673 și 1723, el a scris o serie de scrisori către Societatea Regală din Londra, descriind animalele pe care le-a văzut prin microscopul său simplu, cu o singură lentilă. Van Leeuwenhoek a realizat desene detaliate cu anima.cule pe care le-a găsit în apa de ploaie, în propriile fecale și în materialul răzuit de pe dinți. Aceste desene au fost identificate de atunci ca reprezentări ale bacteriilor și protozoarelor (Figura 1.2).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce este teoria celulară? 1 -5

e te peste Generație spontană

După ce van Leeuwenhoek a descoperit lumea anterioară „invizibilă” a microorganismelor, comunitatea științifică a vremii a devenit interesată de originile acestor viețuitoare minuscule. Până în a doua jumătate a secolului al XIX-lea, mulți oameni de știință și filozofi credeau că unele forme de viață pot apărea spontan din materia nevii; au numit acest proces ipotetic generare spontană. Nu cu mult mai mult de 100 de ani în urmă, oamenii credeau în mod obișnuit că broaștele râioase, șerpii și șoarecii se pot naște din sol umed; că muștele ar putea ieși din gunoi de grajd;

și că viermii (despre care acum știm că sunt larve de muște) ar putea apărea din cadavre în descompunere.

Dovezi pro și contra

Un puternic adversar al generației spontane, medicul italian Francesco Redi și-a propus în 1668 să demonstreze că larvele nu au apărut spontan din carnea în descompunere. Redi a umplut două borcane cu carne în descompunere, Ie primul a fost lăsat nesigilat; soii și-au depus ouăle pe carne, iar ouăle s-au transformat în larve, al doilea borcan a fost sigilat și, pentru că muștele nu și-au putut depune ouăle pe carne, nu au apărut larve. Totuși, antagoniștii lui Redi nu au fost convinși; susțineau că este nevoie de aer proaspăt pentru generarea spontană. Așa că Redi a pus la cale un al doilea experiment, în care a acoperit un borcan cu o plasă fină în loc să-l sigileze. Nu au apărut larve în borcanul acoperit cu tifon, chiar dacă aerul era prezent. Virmele apăreau doar când muștele aveau voie să-și lase ouăle pe carne.

Rezultatele lui Redi au fost o lovitură gravă pentru credința de mult timp că forme mari de viață ar putea apărea din non-viață. Cu toate acestea, mulți oameni de știință încă credeau că organisme mici, cum ar fi „animalculele" lui van Leeuwenhoek, erau suficient de simple pentru a fi generate din materiale nevii.

„Cazul pentru generarea spontană a microorganismelor părea să fie consolidat în 1745, când John Needham, un englez, a descoperit că, chiar și după ce a încălzit fluide nutritive (bulion de pui și bulion de porumb) înainte de a le turna în baloane acoperite, soluțiile răcite erau în curând pline de microorganisme. Needham a susținut că microbii s-au dezvoltat spontan din fluide. Douăzeci de ani mai târziu, Lazzaro Spallanzani, un om de știință italian, a sugerat că microorganismele din aer au intrat probabil în soluțiile lui Needham după ce au fost fierte. Spallanzani a arătat că fluidele nutritive încălzite după ce au fost sigilate într-un balon nu au dezvoltat creștere microbiană. Needham a răspuns susținând că „forța vitală" necesară pentru generarea spontană a fost distrusă de căldură și a fost ținută departe de baloane prin sigilii.

Această „forță vitală" intangibilă a primit cu atât mai multă credință la scurt timp după experimentul lui Spallanzani, când Anton Laurent Lavoisier a arătat importanța oxigenului pentru viață. Observațiile lui Spallanzani au fost criticate pe motiv că nu era suficient oxigen în baloanele închise pentru a susține viața microbiană.

Teoria biogenezei

Problema era încă nerezolvată în 1858, când omul de știință german Rudolf Virchow a contestat cazul pentru generarea spontană cu conceptul de biogeneză, afirmația că celulele vii pot apărea numai din celule vii preexistente. Pentru că nu a putut oferi nicio dovadă științifică, argumentele despre generarea spontană au continuat până în 1861, când problema a fost în cele din urmă rezolvată de omul de știință francez Louis Pasteur.

Cu o serie de experimente ingenioase și persuasive, Pasteur a demonstrat că microorganismele sunt prezente în aer și pot contamina soluțiile sterile, dar că aerul în sine nu creează microbi. A umplut mai multe baloane cu gât scurt cu bulion de vită și apoi le-a fiert conținutul. Unele au fost apoi lăsate deschise și lăsate să se răcească. În câteva zile, aceste baloane s-au dovedit a fi contaminate cu microbi. Celelalte baloane, sigilate după fierbere, erau lipsite de microorganisme. Din aceste rezultate, Pasteur a argumentat că microbii din aer sunt agenții responsabili pentru contaminarea materiei nevii.

Apoi Pasteur a pus bulionul în baloane deschise, cu gât lung și a îndoit gâturile în curbe în formă de S (Figura 1.3). Conținutul acestor baloane a fost apoi fiert și răcit. Bulionul din baloane nu s-a degradat și nu a dat semne de viață, chiar și după luni de zile. Designul unic al lui Pasteur a permis aerului să treacă în balon, dar gâtul curbat a prins orice microorganisme din aer care ar putea contamina bulionul. (Unele dintre aceste vase originale sunt încă expuse la Institutul Pasteur din Paris. Au fost sigilate, dar, la fel ca balonul prezentat în Figura 1.3, nu prezintă niciun semn de contaminare mai mult de 100 de ani mai târziu.)

Pasteur a arătat că microorganismele pot fi prezente în materia nevii – pe solide, în lichide și în aer. Mai mult, el a demonstrat în mod concludent că viața microbiană poate fi distrusă de căldură și că pot fi concepute metode pentru a bloca accesul microorganismelor din aer la mediile nutritive. Aceste descoperiri stau la baza tehnicilor aseptice, tehnici care previn contaminarea cu microorganisme nedorite, care sunt acum practica standard in laborator si multe proceduri medicale. Tehnicile aseptice moderne sunt printre primele și cele mai importante concepte pe care le învață un microbiolog începător.

Lucrarea lui Pasteur a oferit dovezi că microorganismele nu pot proveni din forțele mistice prezente în materialele nevii. Mai degrabă, orice apariție a vieții „spontane” în soluțiile nevii poate fi atribuită microorganismelor care erau deja prezente în aer sau în fluidele în sine. Oamenii de știință cred acum că o formă de generare spontană probabil a avut loc pe Pământul primitiv atunci când a început viața, dar sunt de acord că acest lucru nu se întâmplă în condițiile de mediu actuale.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce dovezi au susținut generarea spontană? 1-6

Cum a fost respinsă generația spontană? 1-7

Epoca de aur a microbiologiei

Lucrarea începută cu Pasteur a început o ex ozie de descoperiri în microbiologie. Perioada 1857-1914 a fost numită în mod corespunzător Epoca de Aur a Microbiologiei. În această perioadă, progresele rapide, conduse în principal de Pasteur și Robert Koch, au dus la stabilirea microbiologiei ca știință. Descoperirile din acești ani au inclus atât agenții multor boli, cât și rolul imunității în prevenirea și vindecarea bolilor. În această perioadă productivă, microbiologii au studiat activitățile chimice ale microorganismelor, au

îmbunătățit tehnicile de efectuare a microscopiei și de cultivare a microorganismelor și au dezvoltat vaccinuri și tehnici chirurgicale. Unele dintre evenimentele majore care au avut loc în timpul Epocii de Aur o. Microbiologia este listată în Figura 1.4.

Fermentare și pasteurizare

Unul dintre pașii cheie care au stabilit relația dintre microorganisme și boală a avut loc atunci când un grup de comercianți francezi i-a cerut lui Pasteur să afle de ce vinul și berea s-au acris. Sperau să dezvolte o metodă care să prevină alterarea atunci când acele băuturi erau expediate pe distanțe lungi. La acea vreme, mulți oameni de știință credeau că aerul transforma zaharurile din aceste fluide în alcool. Pasteur a descoperit în schimb că microorganismele numite drojdii transformă zaharurile în alcool în absența aerului. „Acest proces, numit fermentație (vezi capitolul 5, pagina 130), este folosit pentru a face vin și bere. Acrirea și alterarea sunt cauzate de diferite microorganisme numite bacterii. În prezența aerului, bacteriile schimbă alcoolul în oțet (acid acetic).

Soluția lui Pasteur la problema deteriorării a fost să încălzească berea și vinul suficient pentru a ucide majoritatea bacteriilor care au cauzat alterarea. Procesul, numit pasteurizare, este acum folosit în mod obișnuit pentru a reduce alterarea și pentru a ucide bacteriile potențial dăunătoare din lapte, precum și din unele băuturi alcoolice. Arătarea conexiunii dintre alterarea alimentelor și microorganisme a fost un pas major către stabilirea relației dintre boală și microbi.

Teoria germenilor a bolii

După cum am văzut, „actul conform căruia multe tipuri de boli sunt legate de microorganisme a fost necunoscut până relativ recent. Înainte de vremea lui Pasteur, tratamente eficiente pentru multe boli au fost descoperite prin încercare și eroare, dar cauzele bolilor erau necunoscute.

Conștientizarea faptului că drojdiile joacă un rol crucial în fermentație a fost prima legătură între activitatea unui microorganism și modificările fizice și chimice ale materialelor organice. Această descoperire a alertat oamenii de știință cu privire la posibilitatea ca microorganismele să aibă relații similare cu plantele și animalele.

în special, că microorganismele pot provoca boli. Ideea lui era cunoscută ca teoria germenilor a bolii.

Infirmarea teoriei generației spontane

Conform teoriei generației spontane, viața poate apărea spontan din materie nevii, cum ar fi cadavrele moarte și pământul. Experimentul lui Pasteur, descris mai jos, a demonstrat că microbii sunt prezenți în materia nevii - aer, lichide și solide.

Pasteur a turnat mai întâi bulion de vită. într-un balon cu gât lung.

Microorganismele au fost prezente în bulion.

Apoi a încălzit gâtul balonului și l-a îndoit într-o formă de S; apoi a fiert bulionul câteva minute.

Q Microorganismele nu au apărut în soluția răcită, chiar și după perioade lungi.

PRINCIPII CHEIE

Pasteur a demonstrat că microbii sunt responsabili pentru deteriorarea alimentelor, conducând cercetătorii la legătura dintre microbi şi boală.

Experimentele și observaţiile sale au oferit baza tehnicilor aseptice, care sunt utilizate pentru a preveni contaminarea microbiană, așa cum se arată în fotografia din dreapta.

Bend a împiedicat microbii să intre în balon.

Teoria germenilor era un concept dificil de acceptat pentru mulți oameni la acea vreme, deoarece timp de secole s-a considerat că boala este o pedeapsă pentru crimele sau faptele greșite ale unui individ. Când locuitorii unui întreg sat s-au îmbolnăvit, oamenii deseori puneau boala pe seama demonilor care apăreau ca mirosuri urâte din canalizare sau pe vaporii otrăvitori din mlaștini. Majoritatea oamenilor născuți pe vremea lui Pasteur au considerat de neconceput că microbii „invizibili" ar putea călători prin aer pentru a infecta plante și animale sau să rămână pe îmbrăcăminte și așternut pentru a fi transmisi de la o persoană la alta. În ciuda acestor îndoieli, oamenii de știință au acumulat treptat informațiile necesare pentru a susține noua teorie a germenilor.

În 1865, Pasteur a fost chemat să ajute la combaterea bolii viermilor de mătase, care distrugea industria mătăsii în toată Europa. Cu ani mai devreme, în 1835, Agostino Bassi, un microscopist amator, dovedise că o altă boală a viermilor de mătase era cauzată de o ciupercă. Folosind datele furnizate de Bassi, Pasteur a descoperit că infecția mai recentă a fost cauzată de un protozoar și a dezvoltat o metodă de recunoaștere a molilor afectate de viermi de mătase.

În anii 1860, Joseph Lister, un chirurg englez, a aplicat teoria germenilor procedurilor medicale. Lister știa că în anii 1840, medicul maghiar Ignaz Semmelweis a demonstrat că medicii, care la acea vreme nu își dezinfectau mâinile, transmiteau în mod obișnuit infecții (puerperale, sau naștere, febră) de la un pacient obstetrical la altul. Lister auzise, de asemenea, de munca lui Pasteur care conectează microbii cu bolile animalelor. Dezinfectanții nu erau folosiți în acel moment, dar Lister știa

. 1665 Hooke — Prima observație a celulelor

/1673 van Leeuwenhoek—Prima observare a microorganismelor vii

. 1735 Linnaeus — Nomenclatura pentru organisme

1798 Jenner – primul vaccin

1835 Bassi—ciuperca viermilor de mătase

:840 Semmelweis—Febra la naștere

1853 DeBary—Boala fungică a plantelor

1857 Pasteur—Fermentarea 186-;

1864

1867

\ 1876

'1879

1881

Pasteur—Generație spontană infirmată

Pasteur — Pasteurizare

Lister—Chirurgie aseptică „Koch—Teoria bolii germenilor Neisser—Neisseria gonorrhoeae

Koch — Culturi pure Finley — Febră galbenă

EPOCA DE AUR A MICROBIOLOGIEI

1882 . — Koch — Mycobacterium tuberculosis

Hess—Medii de agar (solid) Koch—Vibrio cholerae 'Metchnikoff—Fagocitoză

Procedura de colorare Gram—Gram Escherich—Escherichia coli Petri—Casa Petri

Kitasato—Clostridium tetani

1883

1884

Louis Pasteur (1822-1895) a demonstrat că viața nu a apărut spontan din materie nevii.

1887

1889

1890 'von Bering—antitoxina difterice

. „Ehrlich—Teoria imunității 1892, Winogradsky—Ciclul sulfului \1898\ Shiga—Shigella dysenteriae 1908 „Ehrlich—Sifilis

i9l0 Chagas—Trypanosoma cruzi 19J1 - - ■

Rous—Virus cauzator de tumori (Premiul Nobel 1966)

Robert Koch (1843-1910)

S-au stabilit pași experimentali pentru legarea directă a unui anumit microb la o anumită boală.

| „Fleming, Chain, Florey—Penicilină Griffith—Transformare în bacterii Lancefield—Antigene streptococice „Stanley, Northrup, Sumner—Virus cristalizat

Beadle și Tatum — Relația dintre gene și enzime Delbriick ana Luria — Infecția virală a bacteriilor sry, MacLeod, McCarty — Materialul genetic este ADN Lederberg și Tatum — Conjugarea bacteriană

— Watson și Crick — Structura ADN

„Jacob și Monod – Reglarea sintezei proteinelor Stewart – Cauza virală a cancerului uman

— Edelman și Porter – Anticorpi

Epstein, Achong. Barr—Virusul Epstein-Barr ca cauză a cancerului uman „Nathans, Smith, Arber—Enzime de restricție (utilizate pentru ADN recombinant Berg—Inginerie genetică

Dulbecco, Temin, Baltimore-reverse transcriptază

>e—Anchaea

/ 'Mitchell—Mecanism chemiosmotic

Margulis - Originea celulelor eucariote 'Klug - Structura virusului mozaic al tutunului McClintock - Transpozoni

/1946 J1953 1957 /

. 1959

/1962

1964

1971

1973

1975

1978 Vai(

<981

1982

1983

Joseph Lister (1827-1912)

A efectuat o intervenție chirurgicală în condiții antiseptice folosind fenol. S-a dovedit că microbii au cauzat infecții ale plăgilor chirurgicale.

tehnologie)

>1988

1994

1997

Deisenhofer, Huber, Michel — Pigmenți de fotosinteză bacteriană Cano — S-a raportat că a cultivat bacterii vechi de 40 de milioane de ani „Prusiner—Prioni

Rebecca C. Lancefield (1895-1981)

Streptococii clasificați în funcție de serotipuri (variante în cadrul unei specii)

Figura 1 •• M:'pietre în microbiologie, evidențiind cele apărute în perioada Aurului

Epoca Microbiologiei. Un asterisc (*) indică un laureat al Premiului Nobel.

De ce credeți că a avut loc Epoca de Aur a Microbiologiei atunci când a avut loc?

că fenolul (acidul carbolic) ucide bacteriile, așa că a început să trateze rănile chirurgicale cu o soluție de fenol. Practica a redus atât de mult incidența infecțiilor și a deceselor, încât alți chirurgi au adoptat-o rapid. Tehnica lui Lister a fost una dintre primele încercări medicale de a controla infecțiile cauzate de microorganisme. De fapt, descoperirile sale au dovedit că microorganismele provoacă infecții ale plăgilor chirurgicale.

„Prima dovadă că bacteriile cauzează de fapt boli a venit de la Robert Koch în 1876. Koch, un medic german, a fost tânărul rival al lui Pasteur în cursa de descoperire a cauzei antraxului, o boală care distrugea vitele și oile în Europa. Koch a descoperit bacterii în formă de tijă cunoscute acum ca Bacillus anthracis (bâ-sil Tus an-thră'sis) în sângele vitelor care muriseră de antrax. El a cultivat bacteriile pe nutrienți și apoi a injectat mostre din cultură în animale sănătoase. Când aceste animale s-au îmbolnăvit și au murit, Koch a izolat bacteriile din sângele lor și le-a comparat cu bacteriile izolate inițial. El a descoperit că cele două seturi de hemoculturi conțineau aceleași bacterii.

Koch a stabilit astfel postulatele lui Koch, o secvență de pași experimentali pentru a lega direct un anumit microb cu o anumită boală (vezi Figura 14.3, pagina 407). În ultimii 100 de ani, aceleași criterii au fost de neprețuit în investigațiile care demonstrează că anumite microorganisme provoacă multe boli. Postulatele lui Koch, limitările lor și aplicarea lor la boală vor fi discutate mai detaliat în capitolul 14.

Vaccinare

Adesea, un tratament sau o procedură preventivă este dezvoltată înainte ca oamenii de știință să știe de ce funcționează. „Vaccinul împotriva variolei este un exemplu. Pe 4 mai 1796, cu aproape 70 de ani înainte ca Koch să stabilească că un anumit microorganism cauzează antraxul, Edward Jenner, un tânăr medic britanic, a început un experiment pentru a găsi o modalitate de a proteja oamenii de variolă.

Epidemiile de variolă erau foarte temute. Boala a răspândit periodic Europa, ucigând mii de oameni și a distrus 90% dintre indienii americani de pe Coasta de Est, când coloniștii europeni au adus pentru prima dată infecția în Lumea Nouă.

Când o tânără lăptăriță a informat-o pe Jenner că nu se poate îmbolnăvi de variolă pentru că fusese deja bolnavă de variola vacii – o boală mult mai ușoară – el a decis să pună la încercare povestea fetei. Mai întâi, Jenner a colectat răzgâituri din veziculele de variola bovină. Apoi a inoculat un voluntar sănătos, în vârstă de 8 ani, cu materialul de variola bovină, zgâriind brațul persoanei cu un ac contaminat cu variola. Zgârietura s-a transformat într-un cucui ridicat. În câteva zile, voluntarul s-a îmbolnăvit ușor, dar și-a revenit și nu a

mai contractat niciodată variola bovină sau variola. Procesul a fost numit vaccinare, de la cuvântul latin vacca, adică vacă. Pasteur i-a dat acest nume în onoarea muncii lui Jenner. Protecția împotriva bolii oferită prin vaccinare (sau prin recuperarea după boală în sine) se numește imunitate. Vom discuta mecanismele imunității în capitolul 17.

La câțiva ani după experimentul lui Jenner, în jurul anului 1880, Pasteur a descoperit de ce funcționează vaccinările. El a descoperit că bacteria care provoacă holera aviară și-a pierdut capacitatea de a provoca boli (și-a pierdut virulența sau a devenit avirulentă) după ce a fost cultivată în laborator pentru perioade lungi de timp. Cu toate acestea, ea - și alte microorganisme cu virulență scăzută - au fost capabile să inducă imunitatea împotriva infecțiilor ulterioare de către omologii săi virulenți. Descoperirea acestui fenomen a oferit un indiciu asupra experimentului de succes al lui Jenner cu variola bovină. Atât variola bovină, cât și variola sunt cauzate de viruși. Chiar dacă virusul variolei nu este un derivat produs în laborator al virusului variolei, este atât de strâns legat de virusul variolei încât poate induce imunitatea la ambii viruși. Pasteur a folosit termenul de vaccin pentru culturile de microorganisme avirulente utilizate pentru inoculare preventivă.

Experimentul lui Jenner a marcat pentru prima dată într-o cultură occidentală când un agent viral viu - virusul variolei bovine - a fost folosit pentru a produce imunitate. Medicii din China au imunizat pacienții împotriva variolei prin îndepărtarea solzilor din pustulele uscate ale unei persoane care suferă de un caz ușor de variolă, măcinarea solzilor până la o pulbere fină și introducerea pulberii în nasul persoanei care trebuie protejată.

Unele vaccinuri sunt încă produse din tulpini microbiene avirulente care stimulează imunitatea la tulpina virulentă aferentă. Alte vaccinuri sunt fabricate din microbi virulenți uciși, din componente izolate ale microorganismelor virulente sau prin tehnici de inginerie genetică.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Rezumați cu propriile cuvinte teoria germenilor a bolii. 1-8

Care este importanța postulatelor lui Koch? 1 -9 P* Care este semnificația descoperirii lui Jenner? 1-10

Nașterea chimioterapiei moderne: visele unui glonț magic”

După ce s-a stabilit relația dintre microorganisme și boală, microbiologii medicali s-au concentrat apoi pe căutarea unor substanțe care ar putea distruge microorganismele patogene fără a deteriora animalul sau umanul infectat. Tratamentul bolii prin utilizarea substanțelor chimice se numește chimioterapie. (Termenul se referă de obicei la tratamentul chimic al bolilor neinfecțioase, cum ar fi cancerul.) Substanțele chimice produse în mod natural de bacterii și ciuperci pentru a acționa împotriva altor microorganisme sunt numite antibiotice. Agenții chimioterapeutici preparați din substanțe chimice în laborator se numesc medicamente sintetice. Succesul chimioterapiei se bazează pe faptul că unele

substanțe chimice sunt mai otrăvitoare pentru microorganisme decât pentru gazdele infectate de microbi. Terapia antimicrobiană va fi discutată mai detaliat în capitolul 20.

De ce crezi că penicilina nu mai este la fel de eficientă ca odinioară?

Primele Droguri Sintetice

Paul Ehrlich, un medic german, a fost gânditorul imaginativ care a tras primul foc în revoluția chimioterapiei. În calitate de student la medicină, Ehrlich a speculat despre un „glonț magic" care ar putea vâna și distruge un agent patogen fără a dăuna gazdei infectate. Apoi a lansat o căutare pentru un astfel de glonț. În 1910, după ce a testat sute de substanțe, a găsit un agent chimioterapeutic numit salvarsan, un derivat de arsenic eficient împotriva sifilisului. Agentul a fost numit salvarsan deoarece se considera că oferă salvare de sifilis și conține arsenic. Înainte de această descoperire, singura substanță chimică cunoscută din arsenalul medical al Europei era un extract din scoarța unui copac sud-american, chinina, care fusese folosită de conchistadorii spanioli pentru a trata malaria.

La sfârșitul anilor 1930, cercetătorii au dezvoltat câteva alte medicamente sintetice care puteau distruge microorganismele. Majoritatea acestor medicamente erau derivați de coloranți. Acest lucru s-a întâmplat deoarece coloranții sintetizați și fabricați pentru țesături au fost testați în mod obișnuit pentru calitățile antimicrobiene de către microbiologi care căutau un „glonț magic". În plus, sulfonamide (medicamente sulfa) au fost sintetizate aproximativ în același timp.

Un accident norocos – Antibiotice

Spre deosebire de medicamentele sulfa, care au fost dezvoltate în mod deliberat dintr-o serie de substanțe chimice industriale, primul antibiotic a fost descoperit accidental. Alexander Fleming, un medic și bacteriolog scoțian, aproape a aruncat câteva plăci de cultură care fuseseră contaminate de mucegai. Din fericire, a aruncat o a doua privire asupra modelului curios de creștere de pe plăcile contaminate. În jurul mucegaiului era o zonă clară în care creșterea bacteriană fusese inhibată (Figura 1.5). Fleming se uita la un mucegai care ar putea inhiba creșterea unei bacterii. Mucegaiul a fost identificat ulterior drept Penicillium notatum (pen-i-sil 1 - &m io-tă tim)i redenumit Penicillium chrysogenum (krl-so jen-um)T și i Fleming numit inhibitorul activ al mucegaiului penicilină' . noi, penicilina este un antibiotic produs de o ciupercă. Utilitatea enormă a penicilinei nu a fost evidentă până în anii 1940, când a fost în sfârșit testată clinic și produsă în masă.

De la aceste descoperiri timpurii, au fost descoperite mii de antibiotice eterice. Din păcate, antibioticele și alte medicamente chimioterapeutice nu sunt lipsite de probleme. Multe substanțe chimice antimicrobiene sunt prea toxice pentru oameni pentru utilizare practică; ele ucid microbii patogeni, dar dăunează și gazdei infectate. Din motive pe care le vom discuta mai târziu, toxicitatea pentru oameni este o problemă deosebită în dezvoltarea medicamentelor pentru tratarea bolilor virale. Creșterea virală depinde de procesele de viață ale celulelor gazdă normale. Astfel, există foarte puține medicamente antivirale de

succes, deoarece un medicament care ar interfera cu reproducerea virală ar afecta probabil și celulele neinfectate ale corpului.

O altă problemă majoră asociată cu medicamentele antimicrobiene este apariția și răspândirea de noi tulpini de microorganisme care sunt rezistente la antibiotice. De-a lungul anilor, tot mai mulți microbi au dezvoltat rezistență la antibiotice care la un moment dat erau foarte eficienți împotriva lor. Rezistența la medicamente rezultă din modificările genetice ale microbilor care le permit să tolereze o anumită cantitate de antibiotic care i-ar inhiba în mod normal (vezi caseta din capitolul 26, pagina 757). De exemplu, un microbi ar putea produce substanțe chimice (enzime) care inactivează antibioticele sau un microbi ar putea suferi modificări la suprafața sa care împiedică un antibiotic să se atașeze sau să intre în el.

1 Apariția recentă a Staphylococcus aureus și Enterococcus faecalis (en-te-ro-kok'kus fe-kă'lis) rezistent la vancomicină a alarmat profesioniștii din domeniul sănătății, deoarece indică faptul că unele infecții bacteriene tratabile anterior ar putea fi în curând imposibil de tratat cu antibiotice.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

P Care a fost „glonțul magic" al lui Ehrlich? 1-11*

Evoluții moderne în microbiologie

Căutarea de a rezolva rezistența la medicamente, de a identifica virușii și de a dezvolta vaccinuri necesită tehnici de cercetare sofisticate și studii corelate la care nu s-au visat niciodată în zilele lui Koch și Pasteur.

Bazele puse în timpul Epocii de Aur a Microbiologiei au oferit baza pentru câteva realizări monumentale în cursul secolului XX (Tabelul 1.2). Au fost dezvoltate noi ramuri ale microbiologiei, inclusiv imunologia și virologia. Cel mai recent, dezvoltarea unui set de noi metode numite tehnologie ADN recombinant a revoluționat cercetarea și aplicațiile practice în toate domeniile microbiologiei.

Bacteriologie, micologie și parazitologie Bacteriologia, studiul bacteriilor, a început cu prima examinare de către van Leeuwenhoek a răzuirii dinților. Nou patogen

TABELUL 1.2 Premii Nobel selectate acordate pentru cercetare în microbiologie

Figura 1.6 Parazitologie: studiul protozoarelor și viermilor paraziți. [0 bacterii sunt încă descoperite în mod regulat. Mulți bacteriologi, precum Pasteur, se uită la rolurile bacteriilor în alimente și în mediu. O descoperire interesantă a avut loc în 1997, când Heide Schulz a descoperit o bacterie suficient de mare pentru a fi văzută cu ochiul liber (0,2 mm lățime).

Această bacterie, numită Thiomargarita namibiensis (thio-mă-găr-e-tă na'mib-e-en-sis), trăiește în noroiul de pe coasta africană. Thiomargarita este neobișnuită datorită dimensiunii și nișei sale ecologice. Bacteria consumă hidrogen sulfurat, care ar fi toxic pentru animalele care locuiesc în noroi (Figura 11.28, pagina 327).

Micologia, studiul ciupercilor, include ramuri medicale, agricole și ecologice. Amintiți-vă că munca lui Bassi care a condus la teoria germenilor a bolii s-a concentrat pe un agent patogen fungic. Ratele infecțiilor fungice au crescut în ultimul deceniu, reprezentând 10% din infecțiile dobândite în spital. Se crede că schimbările climatice și de mediu (secetă severă) explică creșterea de zece ori a infecțiilor cu Coccidioides immitis (kok-sid-e-oi'dez im'mi-tis) în California. Noi tehnici de diagnosticare și tratare a infecțiilor fungice sunt în prezent investigate.

Parazitologia este studiul protozoarelor și viermilor paraziți. Deoarece mulți viermi paraziți sunt suficient de mari pentru a fi văzuți cu ochiul liber, aceștia sunt cunoscuți de mii de ani. S-a speculat că simbolul medical, toiagul lui Asclepius, reprezintă îndepărtarea viermilor de Guineea paraziți (Figura 1.6). Asclepius a fost un medic grec care a practicat aproximativ 1200 î.Hr. și a fost divinizat ca zeul medicinei.

Defrișarea pădurilor tropicale a expus muncitorii la paraziți nedescoperiți anterior. Boli parazitare necunoscute anterior sunt găsite și la pacienții al căror sistem imunitar a fost suprimat de transplanturi de organe, chimioterapie pentru cancer sau SIDA.

Bacteriologia, micologia și parazitologia trec în prezent printr-o „epoca de aur" a clasificării. Progresele recente în genomica, studiul tuturor genelor unui organism, au permis oamenilor de știință să clasifice bacteriile și ciupercile în funcție de relațiile lor genetice cu alte bacterii. ia, ciuperci și protozoare. Aceste microorganisme au fost inițial clasificate în funcție de un număr limitat de caracteristici vizibile.

Imunologie

Imunologia, studiul imunității, da.es Hack i.. „Cultura occidentală la primul vaccin al lui Jenner în 1796. De atunci, cunoștințele despre sistemul imunitar s-au acumulat în mod constant și s-au extins rapid. Vaccinurile sunt acum disponibile sau numeroase boli, inclusiv rujeola, rubeola (rujeola germană), oreionul, varicela, pneumonia pneumococică, tetanosul, tuberculoza, in.luenza, tusea convulsivă, poliomielita și hepatita B. Vaccinul împotriva variolei a fost atât de eficient încât boala a fost eliminată. Oficialii din sănătatea publică estimează că poliomielita va fi eradicată în câțiva ani din cauza vaccinului antipolio. ;

Un progres major în imunologie a avut loc în 1933, când Rebecca Lancefield a propus ca streptococii să fie clasificați în funcție de serotipuri (variante din cadrul unei specii) pe baza anumitor componente din pereții celulari ai bacteriilor. Streptococii sunt responsabili pentru o varietate de boli, cum ar fi durerea în gât (faringite streptococice), șocul toxic streptococic și septicemia (otrăvirea sângelui). Cercetările sale permit identificarea rapidă a streptococilor patogeni specifici pe baza tehnicilor imunologice.

În 1960, au fost descoperiți interferonii, substanțe generate de propriul sistem imunitar al organismului. Interferonii inhibă replicarea virusurilor și au declanșat cercetări considerabile legate de tratamentul bolilor virale și al cancerului. Una dintre cele mai mari provocări de astăzi pentru imunologi este să învețe cum ar putea fi stimulat sistemul imunitar pentru a îndepărta virusul responsabil de SIDA, o boală care distruge sistemul imunitar. -

Virologie

1 el studiul virusurilor, virologia, a apărut în timpul Epocii de Aur a Microbiologiei. În 1892, Dmitri Iwanowski a raportat că organismul care a cauzat boala mozaic a tutunului era atât de mic încât a trecut prin linia de filtre suficient pentru a opri toate bacteriile cunoscute. La acea vreme, iwanowski nu știa că organismul în cauză era un virus. În 1935, Wendell Stanley a demonstrat că organismul, numit virusul mozaicului tutunului (TMV), era fundamental diferit de alți microbi și atât de simplu și omogen încât ar putea fi cristalizat ca un compus chimic. Munca lui Stanley a facilitat studiul structurii virale și al chimiei. De la dezvoltarea microscopului electronic în anii 1940, microbiologii au reușit să observe structura virusurilor în detaliu, iar astăzi se cunosc multe despre structura și activitatea lor.

Tehnologia ADN recombinant

Microorganismele pot fi acum modificate genetic pentru a produce cantități mari de hormoni umani și alte substanțe medicale necesare urgent. În anii 1960, Paul Berg a arătat că fragmente de ADN uman sau animal (gene) care codifică proteine importante pot fi atașate la ADN-ul bacterian. Hibridul rezultat a fost

primul exemplu de ADN recombinat. Când ADN-ul recombinat este inserat în bacterii (sau alți microbi), acesta poate fi utilizat pentru a produce cantități mari din proteina dorită. „Tehnologia care s-a dezvoltat din această tehnică se numește tehnologie ADN recombinant”. Originile sale pot fi găsite în două domenii înrudite. În primul rând, genetica microbiană, studiază mecanismele prin care microorganismele moștenesc trăsăturile. Al doilea, biologia moleculară*, studiază în mod specific modul în care informația genetică este transportată în moleculele de ADN și modul în care ADN-ul dirijează sinteza proteinelor.

Deși biologia moleculară* cuprinde toate organismele, o mare parte din cunoștințele noastre despre modul în care genele determină trăsături specifice a fost dezvăluită prin experimente cu bacterii. Prin anii 1930, toate cercetările genetice s-au bazat pe studiul celulelor vegetale și animale. Dar în anii 1940, oamenii de știință s-au orientat către organisme unicelulare, în primul rând bacterii, care au mai multe avantaje pentru cercetarea genetică și biochimică. În primul rând, bacteriile sunt mai puțin complexe decât plantele și animalele. Pe de altă parte, ciclurile de viață ale multor* bacterii durează mai puțin de o oră, astfel încât oamenii de știință pot cultiva un număr foarte mare de bacterii pentru studiu într-un timp relativ scurt.

Odată ce știința sa îndreptat spre studiul vieții unicelulare, s-au făcut progrese rapide în genetică. În 1941, George W. Beadle și Edward L. 'latum au demonstrat relația dintre gene și

enzime. ADN-ul a fost stabilit ca material ereditar în 1944 de Oswald Avery, Colin MacLeod și Maclyn McCarty. În 1946, Joshua Lederberg și Edward L. Tatum au descoperit că materialul genetic poate fi transferat de la o bacterie la alta printr-un proces numit conjugare, iar în 1953, James Watson și Francis C au propus un model de replicare a structurii ADN-ului. La începutul anilor 1960 a fost martorul unei noi explozii de descoperiri legate de modul în care ADN-ul controlează sinteza proteinelor. În 1961, Francois Jacob și Jacques Monoid au descoperit ARN mesager (acid ribonucleic), o substanță chimică implicată în sinteza proteinelor, iar mai târziu au făcut primele descoperiri majore despre reglarea funcției genelor în bacterii. În aceeași perioadă, oamenii de știință au reușit să spargă codul genetic și să înțeleagă astfel cum informațiile pentru sinteza proteinelor din ARN-ul mesager sunt traduse în secvența de aminoacizi pentru producerea proteinelor.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Definiți bacteriologia, micologia, parazitologia, imunologia și virologia. 1-12

Diferențierea geneticii microbiene de biologia moleculară. 1-13

Microbii și bunăstarea umană

OBIECTIVELE ÎNVĂȚĂRII

1 14 Enumerați cel puțin patru activități benefice ale microorganismelor.

■ I 5 Numiți două exemple de biotehnologie care utilizează tehnologia ADN recombinant și două exemple care nu o folosesc.

După cum am menționat mai devreme, doar o minoritate din toate microorganismele sunt patogene. Microbii care provoacă alterarea alimentelor, cum ar fi punctele moi de pe fructe și legume, descompunerea cărnii și râncezirea grăsimilor și uleiurilor, sunt, de asemenea, o minoritate. Marea majoritate a microbilor aduce beneficii oamenilor, altor animale și plantelor în multe feluri. De exemplu, microbii produc metan și etanol care pot fi folosiți ca combustibili alternativi pentru a genera energie electrică și a propulsa vehiculele. Companiile de biotehnologie* folosesc enzime bacteriene pentru a descompune celuloza vegetală, astfel încât drojdia să poată metaboliza zaharurile simple rezultate și să producă etanol. „Următoarele secțiuni prezintă câteva dintre aceste activități benefice. În capitolele ulterioare, vom discuta aceste activități în detaliu.

Reciclarea elementelor vitale

Descoperirile făcute de doi microbiologi în anii 1880 au stat la baza înțelegerii actuale a ciclurilor biogeochimice care susțin viața pe Pământ. Martinus Beijerinck și Sergei Winogradsky au fost primii care au arătat cum bacteriile ajută la reciclarea elementelor vitale dintre sol și atmosferă. Ecologia microbiană, studiul* al relației dintre microorganisme și mediul lor, își are originea în munca acestor oameni de știință. Astăzi, ecologia microbiană* s-a ramificat și include studiul modului în care populațiile microbiene

interacționează cu plantele și animalele în diferite medii. Printre preocupările ecologistilor microbieni se numără poluarea apei și substanțele chimice toxice din mediu.

„Elementele chimice carbonul, azotul, oxigenul, sulful și fosforul sunt esenţiale pentru viaţă și sunt abundente, dar nu neapărat în forme pe care organismele le pot folosi. Microorganismele sunt în primul rând responsabile pentru transformarea acestor elemente în forme pe care plantele și animalele le pot folosi. Microorganismele, în primul rând bacteriile și ciupercile, returnează dioxidul de carbon în atmosferă atunci când descompun deșeurile organice și plantele și animalele moarte. Algele, cianobacteriile și plantele superioare folosesc dioxidul de carbon în timpul fotosintezei pentru a produce carbohidraţi pentru animale, ciuperci și bacterii. Azotul este abundent în atmosferă, dar în această formă nu este utilizat de plante și animale. Doar bacteriile pot converti în mod natural azotul atmosferic într-o formă disponibilă pentru plante și animale.

Tratarea apelor uzate: Folosirea microbilor pentru a recicla apa

Conștientizarea crescândă a societății noastre cu privire la necesitatea de a conserva mediul i-a făcut pe oameni mai conștienți de responsabilitatea de a recicla apa prețioasă și de a preveni poluarea râurilor și oceanelor. Un poluant major este canalizarea, care constă din excremente umane, ape uzate, deșeuri industriale și scurgeri de suprafaţă. Apele reziduale sunt aproximativ 99,9% apă, cu câteva sutimi de 1% solide în suspensie. Restul este o varietate de materiale dizolvate.

Stațiile de tratare a apelor uzate îndepărtează materialele nedorite și microorganismele dăunătoare. Tratamentele combina diverse procese fizice cu actiunea microbilor benefici. Solidele mari, cum ar fi hârtia, lemnul, sticla, pietrișul și plasticul sunt îndepărtate din canalizare; Au rămas materiale lichide și organice pe care bacteriile le transformă în astfel de produse secundare precum dioxid de carbon, nitraţi, fosfaţi, sulfaţi, amoniac, hidrogen sulfurat și metan. (Vom discuta despre tratarea apelor uzate în detaliu în capitolul 27.)

Bioremediere: Utilizarea microbilor pentru a curăța poluanții

În 1988, oamenii de știință au început să folosească microbi pentru a curăța poluanții și deșeurile toxice produse de diferite procese industriale. De exemplu, unele bacterii pot folosi de fapt poluanții ca surse de energie; alții produc enzime care descompun toxinele în substanțe mai puțin nocive. Prin utilizarea bacteriilor în aceste moduri – un proces cunoscut sub numele de bioremediere – toxinele pot fi îndepărtate din puțuri subterane, deversări chimice, locuri de deșeuri toxice și scurgeri de petrol, cum ar fi scurgerea masivă de petrol de la o platformă de foraj offshore din Golful Mexic din 20 aprilie 2010 (vezi și caseta din Capitolul 2, pagina 32). În plus, enzimele bacteriene sunt folosite în soluțiile de curățare a scurgerilor pentru a îndepărta înfundarea fără a adăuga substanțe chimice dăunătoare mediului. În unele cazuri, se folosesc microorganisme indigene mediului; în altele, se folosesc microbi modificaţi genetic. Printre microbii cei mai des utilizaţi se numără anumite specii de bacterii din genurile Pseudomonas (su-do-mo'nas) și Bacillus (ba-sil'lus). Enzimele

bacilului sunt, de asemenea, folosite în detergenții de uz casnic pentru a îndepărta petele de pe îmbrăcăminte.

Controlul insectelor dăunătoare de către microorganismele Mi

Pe lângă răspândirea bolilor, insectele pot provoca daune devastatoare culturilor. Prin urmare, combaterea insectelor dăunătoare este importantă atât pentru agricultură, cât și pentru prevenirea bolilor umane.

Bacteria Bacillus thuringiensis (thur-in-je-en'sis) a fost utilizată pe scară largă în Statele Unite pentru a controla dăunători precum omizile de lucernă, viermii de la lucernă, viermii de porumb, viermii de varză, viermii de muguri de tutun și rolele de frunze de pomi fructiferi. Este încorporat într-o pulbere de praf care se aplică culturilor pe care le mănâncă aceste insecte. Bacteriile produc cristale de proteine care sunt toxice pentru sistemele digestive ale insectelor. Gena toxinei a fost, de asemenea, introdusă în unele plante pentru a le face rezistente la insecte.

Folosind controlul microbian mai degrabă decât chimic, fermierii pot evita deteriorarea mediului. Multe insecticide chimice, cum ar fi DDT, rămân în sol ca poluanți toxici și sunt în cele din urmă încorporate în lanțul alimentar.

Biotehnologie modernă și tehnologie ADN recombinant

Mai devreme, am atins despre utilizarea comercială a microorganismelor pentru a produce unele produse și substanțe chimice comune. Astfel de aplicații practice ale microbiologiei se numesc biotehnologie. Deși biotehnologia a fost folosită într-o anumită formă de secole, tehnicile au devenit mult mai sofisticate în ultimele câteva decenii. În ultimii câțiva ani, biotehnologia a suferit o revoluție prin apariția tehnologiei ADN recombinant pentru a extinde potențialul bacteriilor, virușilor și celulelor de drojdie și al altor ciuperci ca fabrici biochimice în miniatură. Celulele vegetale și animale cultivate, precum și plantele și animalele intacte, sunt de asemenea utilizate ca celule și organisme recombinante.

Aplicațiile tehnologiei ADN recombinant cresc cu fiecare an care trece. Tehnicile ADN recombinant au fost utilizate până acum pentru a produce un număr de proteine naturale, vaccinuri și enzime. Astfel de substanțe au un mare potențial pentru . uz medical; unele dintre ele sunt descrise în Tabelul 9.1 de la pagina 248.

Un rezultat foarte interesant și important al tehnicilor ADN recombinant este terapia genică - inserarea unei gene lipsă sau înlocuirea uneia defecte în celulele umane. Această tehnică folosește un virus inofensiv pentru a transporta gena lipsă sau nouă în anumite celule gazdă, unde gena este preluată și inserată în cromozomul corespunzător. Din 1990, terapia genică a fost folosită pentru a trata pacienții cu deficit de adenozin deaminază (ADA), o cauză a bolii imunodeficienței combinate severe (SCID), în care celulele sistemului imunitar sunt inactive sau lipsesc; Distrofia musculară Duchennes, o boală care distruge mușchii; fibroza chistică, o boală a porțiunilor secretoare ale căilor respiratorii, pancreasului, glandelor salivare și glandelor sudoripare; și deficiența receptorilor LDL, o afecțiune în care

receptorii de lipoproteine cu densitate joasă (LDL) sunt defecte și LDL nu poate pătrunde în celule. LDL rămâne în sânge în concentrații mari și crește riscul de ateroscleroză și boli coronariene, deoarece duce la formarea plăcilor de grăsime în vasele de sânge. Rezultatele sunt încă în curs de evaluare. Alte boli genetice pot fi, de asemenea, tratabile prin terapie genică în viitor, inclusiv hemofilia, o incapacitate a sângelui de a coagula normal; diabet zaharat, niveluri crescute de zahăr din sânge; siclemie, un tip anormal de hemoglobină; și un tip de hipercolesterolemie, colesterolul din sânge crescut.

Dincolo de aplicațiile medicale, tehnicile ADN recombinant au fost aplicate și în agricultură. De exemplu, tulpinile de bacterii modificate genetic au fost dezvoltate pentru a proteja fructele împotriva daunelor cauzate de îngheț, iar bacteriile sunt modificate pentru a controla insectele care dăunează culturilor. ADN-ul recombinant a fost, de asemenea, folosit pentru a îmbunătăți aspectul, aroma și perioada de valabilitate a fructelor și legumelor. Potențialele utilizări agricole ale ADN-ului recombinant includ rezistența la secetă, rezistența la insecte și boli microbiene și toleranța crescută la temperatură în culturi.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Numiți două utilizări benefice ale bacteriilor. 1-14 Diferențierea biotehnologiei de tehnologia ADN recombinant. 1-15

Microbii și bolile umane

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

1-16 Definiți microbiota normală și rezistența.

1-17 Definiți biofilmul.

1-18 Definiți boala infecțioasă emergentă.

Microbiota normală

Cu toții trăim de la naștere până la moarte într-o lume plină de microbi și toți avem o varietate de microorganisme pe și în interiorul corpului nostru. Aceste microorganisme alcătuiesc microbiota sau flora noastră normală” (Tgura 1.7). Microbiota normală nu numai că nu ne face rău, dar, de asemenea, în unele cazuri, ne poate aduce beneficii. De exemplu, unele microbiote normale ne protejează împotriva bolilor, prevenind creșterea excesivă a microbilor dăunători, iar altele produc substanțe utile precum vitamina K și unele vitamine B. Din păcate, în anumite împrejurări, microbiota normală ne poate îmbolnăvi sau ne poate intercepta persoanele pe care le contactăm. De exemplu, atunci când unele microbiote normale își părăsesc habitatul, pot provoca boli.

Când este un microb o parte binevenită a unui om sănătos și când este un precursor de boală? Distincția dintre sănătate și boală este în mare parte un echilibru între apărarea naturală a organismului și proprietățile producătoare de boli ale microorganismelor. Dacă corpurile noastre depășesc tacticile ofensive ale unui anumit microb, depinde de rezistența

noastră – capacitatea de a alunga bolile. Rezistența importantă este asigurată de bariera pielii, mucoaselor, cililor, acidului gastric și substanțelor chimice antimicrobiene precum interferonii. Microbii pot fi distruși de celulele albe din sânge, de răspunsul inflamator, de febră și de răspunsurile specifice ale sistemului nostru imunitar. Uneori, atunci când apărarea noastră naturală nu este suficient de puternică pentru a învinge un invadator, acestea trebuie să fie suplimentate cu antibiotice sau alte medicamente.

Caz clinic

Stafilococul este denumirea comună pentru bacteriile Staphylococcus aureus, care sunt transportate pe pielea a aproximativ 30% din populația umană. Deși Andrea este diligentă în a-și lua antibioticul așa cum ia fost prescris, nu pare să se amelioreze. După 3 zile, leziunea de la încheietura mâinii ei este chiar mai mare decât înainte și acum drenează puroi galben. Andreei face și febră. Mama ei insistă să-și sune medicul pentru a-i spune despre cele mai recente evoluții.

De ce persistă infecția Andreei după tratament?

Biofilme

În natură, microorganismele pot exista ca celule unice care plutesc sau înoată independent într-un lichid sau se pot atașa între ele și/sau pe o suprafață de obicei solidă. Acest ultim mod de comportament se numește biofilm, o agregare complexă de microbi. Slime care acoperă o stâncă dintr-un lac este un biofilm. Folosește-ți limba pentru a simți biofilmul de pe dinți. Biofilmele pot fi benefice. Îți protejează membranele mucoase de microbii dăunători, iar biofilmele din lacuri sunt un aliment important pentru animalele acvatice. Biofilmele pot fi, de asemenea, dăunătoare. Pot înfunda conductele de apă și pe implanturi medicale

* La un moment dat, bacteriile și ciupercile erau considerate a fi plante și, astfel, a fost folosit termenul de floră.

Figura 1.7 Mai multe tipuri de bacterii găsite ca parte a microbiotei normale pe suprafața limbii umane.

Cum beneficiem de producția de vitamina K de către microbi?

precum protezele articulare și cateterele (Figura 1.8), acestea pot provoca infecții precum endocardita (inflamația inimii). Bacteriile din biofilme sunt adesea rezistente la antibiotice,

deoarece biofilmul oferă o barieră de protecție. Vezi caseta din Capitolul 3 de la pagina 56. Biofilmele vor fi discutate în Capitolul 6.

Boli Infecțioase

O boală infecțioasă este o boală în care agenții patogeni invadează o gazdă susceptibilă, cum ar fi un om sau un animal. În acest proces, agentul patogen își desfășoară cel puțin o parte a ciclului său de viață în interiorul gazdei, iar boala apare frecvent. Până la sfârșitul celui de-al Doilea Război Mondial, mulți oameni credeau că bolile infecțioase sunt sub control. Ei au crezut că malaria va fi eradicată prin utilizarea insecticidului DDT pentru a ucide țânțarii, că un vaccin ar preveni difteria și că măsurile de salubritate îmbunătățite ar ajuta la prevenirea transmiterii holerei. Malaria este departe de a fi eliminată. Din 1986, au fost identificate focare locale în New Jersey, California, Florida, New York și Texas, iar boala infectează 300 de milioane de oameni din întreaga lume. În 1994, în Statele Unite a apărut difteria, adusă de călători din noile state independente din fosta Uniune Sovietică, care se confruntau cu o epidemie masivă de difterie. Epidemia a fost adusă sub control în 1998. Focarele de holeră încă apar în părțile mai puțin dezvoltate ale lumii.

Boli Infecțioase Emergente

Aceste focare recente indică faptul că bolile infecțioase nu dispar, ci mai degrabă par să reapar și să crească. În plus, în ultimii ani au apărut o serie de boli noi - boli infecțioase emergente (BIE). Acestea sunt boli care sunt noi sau în schimbare și sunt în creștere

sau au potențialul de a crește incidența în viitorul apropiat. Unii dintre factorii care au contribuit la dezvoltarea EID sunt schimbările evolutive ale organismelor existente (de exemplu, Vibrio cholerae; vib're-6 kol'-er-i); răspândirea bolilor cunoscute în noi regiuni geografice sau populații prin transportul modern (de exemplu, virusul West Nile); și expunerea umană crescută la agenți infecțioși noi, neobișnuiți, în zonele care suferă schimbări ecologice, cum ar fi defrișările și construcțiile (de exemplu, virusul hemoragic venezuelean). EID se dezvoltă și ca rezultat al rezistenței antimicrobiene (de exemplu, S. aureus rezistent la vancomicină). Un număr tot mai mare de incidente în ultimii ani evidențiază amploarea problemei.

Gripa H1N1 (gripa), cunoscută și sub denumirea de gripă porcină, este un tip de gripă cauzată de un nou virus numit gripa H1N1. HIN1 a fost detectat pentru prima dată în Statele Unite în aprilie 2009. În iunie 2009, Organizația Mondială a Sănătății a declarat gripa H1N1 ca fiind o boală pandemică globală (o boală care afectează un număr mare de indivizi într-o perioadă scurtă de timp și apare în întreaga lume).

Gripa aviară A (H5N1), sau gripa aviară, a atras atenția publicului în 2003, când a ucis milioane de păsări de curte și 24 de oameni în opt țări din Asia de Sud-Est. Virusurile gripei aviare apar la păsări din întreaga lume. Anumite păsări sălbatice, în special păsările de apă, nu se îmbolnăvesc, dar poartă virusul în intestine și îl aruncă în

salivă, secreții nazale și fecale. Cel mai adesea, păsările sălbatice răspândesc gripa la păsările domestice, în care virusul provoacă moartea.

Virușii gripei A se găsesc la multe animale diferite, inclusiv rațe, găini, porci, balene, cai și foci. În mod normal, fiecare subtip de virus gripal A este specific anumitor specii. Cu toate acestea, virusurile gripale A observate în mod normal la o specie se pot încrucișa uneori și pot provoca îmbolnăviri la o altă specie, iar toate subtipurile virusului gripal A pot infecta porcii. Deși este neobișnuit ca oamenii să ia infecții gripale direct de la animale, au fost raportate infecții umane sporadice și focare cauzate de anumite viruși de gripă aviară A și virusuri gripale de porc. În 2008, gripa aviară îmbolnăvise 242 de persoane, iar aproximativ jumătate dintre ei au murit. Din fericire, virusul nu a evoluat încă pentru a se transmite cu succes printre oameni.

Infecțiile umane cu virusuri de gripă aviară detectate din 1997 nu au dus la transmitere susținută de la om la om. Cu toate acestea, deoarece virusurile gripale au potențialul de a se schimba și de a câștiga capacitatea de a se răspândi cu ușurință între oameni, monitorizarea infecției umane și a transmiterii de la persoană la persoană este importantă (vezi caseta din Capitolul 13 la pagina 374). Administrația SUA pentru Alimente și Medicamente (FDA) a aprobat un vaccin uman împotriva virusului gripei aviare în aprilie 2007.

Antibioticele sunt esențiale în tratarea infecțiilor bacteriene. Cu toate acestea, ani de utilizare excesivă și abuz a acestor medicamente au creat medii în care bacteriile rezistente la antibiotice prosperă. Mutațiile aleatorii ale genelor bacteriene pot face o bacterie rezistentă la un antibiotic. În prezența acelui antibiotic, această bacterie are un avantaj față de alte bacterii susceptibile și este capabilă să prolifereze. Bacteriile rezistente la antibiotice au devenit o criză globală de sănătate.

Staphylococcus aureus provoacă o gamă largă de infecții umane, de la coșuri și furuncule la pneumonie, intoxicații alimentare și infecții ale plăgilor chirurgicale și este o cauză semnificativă a infecțiilor asociate spitalelor. După succesul inițial al penicilinei în tratarea infecției cu S. aureus, S. aureus rezistent la penicilină a devenit o amenințare majoră în spitale în anii 1950, necesitând utilizarea meticilinei. În anii 1980, S. aureus rezistent la meticilină, numit MRSA, a apărut și a devenit endemic în multe spitale, ceea ce duce la creșterea utilizării vancomicinei. La sfârșitul anilor 1990,

cu S. aureus care au fost mai puțin sensibile la vancomicină (vancomicină intermediară £. aureus sau VISA). În 2002, a fost raportată o infecție cauzată de S. aureus 1\ ÂSA) rezistent la vancomicină la un pacient din Statele Unite.

În martie 2010, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a raportat că în unele părți ale lumii (cum ar fi nord-vestul Rusiei) aproximativ 28% dintre persoanele cu tuberculoză (TB) au avut forma bolii multirezistentă (MDR-TB). IB multirezistent la medicamente este cauzat de bacterii care sunt rezistente cel puțin la antibioticele izoniazidă și rifampicină. cele mai eficiente medicamente împotriva tuberculozei.

Substanțele antibacteriene adăugate diferitelor produse de curățare de uz casnic sunt similare cu antibioticele în multe privințe. Când sunt utilizate corect, acestea inhibă creșterea bacteriilor. Cu toate acestea, ștergerea fiecărei suprafețe a gospodăriei cu acești agenți antibacterieni creează un mediu în care bacteriile rezistente supraviețuiesc. Din păcate, atunci când chiar trebuie să dezinfectați casele și mâinile - de exemplu, când un membru al familiei vine acasă de la un spital și este încă vulnerabil la infecție - veți întâlni în principal bacterii rezistente.

Curățenia rutină a casei și spălarea mâinilor sunt necesare, dar săpunurile și detergenții standard (fără antibacteriene adăugate) sunt bune pentru aceste sarcini. În plus, substanțele chimice care se evaporă rapid, cum ar fi înălbitorul cu clor, alcoolul, amoniacul și peroxidul de hidrogen, elimină bacteriile potențial patogene, dar nu lasă reziduuri care încurajează creșterea bacteriilor rezistente.

Caz clinic

Bacteria S. aureus responsabilă de infecția Andreei este rezistentă la antibioticul p-lactamic prescris de medicul Andrei. Îngrijorat de ceea ce îi spune pacientul său, medicul Andreei sună la spitalul local pentru a-i anunța că trimite un pacient. În departamentul de urgență, o asistentă tamponează rana Andreei și o trimite la laboratorul spitalului pentru cultură. Cultura arată că infecția Andreei este cauzată de Staphylococcus aureus rezistent la meticilină (MRSA). MRSA produce p-lactamaza, o enzimă care distruge antibioticele p-lactamice. Medicul curant drenează chirurgical puroiul din rana de la încheietura mâinii Andreei.

Cum se dezvoltă rezistența la antibiotice?

19

Encefalita West Nile (WNE) este o inflamație a creierului cauzată de virusul West Nile (vezi capitolul 8). WNE a fost diagnosticat pentru prima dată în regiunea West Nile din Uganda în 1937. În 1999, virusul și-a făcut prima apariție nord-americană la oameni în New York City. În 2007, virusul West Nile a infectat peste 3600 de oameni în 43 de state. Virusul West Nile este acum stabilit la păsările nemigratoare din 48 de state. „Virusul, care este purtat de păsări, este transmis între păsări – și la cai și oameni – de către țânțari. Este posibil ca virusul West Nile să fi ajuns în Statele Unite la un călător infectat sau la păsările migratoare.

În 1996, țările din întreaga lume refuzau să importe carne de vită din Regatul Unit, unde sute de mii de vite născute după 1988 au trebuit să fie ucise din cauza unei epidemii de encefalopatie spongiformă bovină (en-sef-a-lop'a-the), numită și ESB sau boala vacii nebune. ESB a intrat pentru prima dată în atenția microbiologilor în 1986, fiind una dintre puținele boli cauzate de o proteină infecțioasă numită prion. Studiile sugerează că sursa bolii a fost hrana pentru vite preparată din oi infectate cu propria lor versiune a bolii. Vitele sunt ierbivore (plantater), dar adăugarea de proteine în hrana lor le îmbunătățește creșterea și sănătatea. Boala Creutzfeldt-Jakob (kroits'felt ya'kob), sau CJD, este o boală

umană cauzată și de un prion, „incidența BCJ în Regatul Unit este similară cu incidența din alte țări. Cu toate acestea, până în 2005, Regatul Unit a raportat 154 de cazuri umane de BCJ cauzate de o nouă variantă legată de boala bovină (vezi capitolul 22). .

Escherichia coli este un locuitor normal al intestinului gros al vertebratelor, inclusiv al oamenilor, iar prezența sa este benefică deoarece ajută la producerea anumitor vitamine și descompune alimentele altfel nedigerabile (vezi capitolul 25). Cu toate acestea, o tulpină numită E. coli O157:H7 provoacă diaree cu sânge atunci când crește în intestine. Această tulpină a fost recunoscută pentru prima dată în 1982 și de atunci a apărut ca o problemă de sănătate publică. Acum este una dintre principalele cauze de diaree la nivel mondial. În 1996, aproximativ 9000 de oameni din Japonia s-au îmbolnăvit și 7 au murit, ca urmare a infecției cu E. coli O157:H7. Recentele izbucniri de E. coli O157:H7 din Statele Unite, asociate cu contaminarea cărnii insuficient gătite și a băuturilor nepasteurizate, au determinat oficialii sănătății publice să solicite dezvoltarea de noi metode de testare a bacteriilor din alimente.

În 1995, pe primele pagini ale principalelor ziare au fost raportate infecții cu așa-numitele bacterii care mănâncă carne. Bacteriile sunt denumite mai corect streptococ invaziv de grup A (strep-to-kok'kus) sau IGAS. Ratele IGAS în Statele Unite, Scandinavia, Anglia și Țara Galilor au crescut.

În 1995, un tehnician de laborator al unui spital din Republica Democrată Congo (DROC), care avea febră și diaree cu sânge, a fost operat pentru un intestin suspectat de perforare. După aceea, a început să aibă hemoragie și sângele a început să se coaguleze în vasele de sânge. Câteva zile mai târziu, lucrătorii din domeniul sănătății din spitalul în care stătea el au prezentat simptome similare. Unul dintre ei a fost transferat la un spital dintr-un alt oraș; De asemenea, personalul din cel de-al doilea spital care a îngrijit acest pacient a dezvoltat simptome. Până la încheierea epidemiei, 315 de persoane au contractat febră hemoragică Ebola (hem-6r-raj'ik) sau EHF, iar peste 75% dintre ei au murit. Epidemia a fost controlată atunci când microbiologii au instituit instruire privind utilizarea echipamentului de protecție și măsuri educaționale în comunitate. Contactul personal strâns cu sângele infecțios sau alte fluide corporale sau țesuturi (vezi capitolul 23) duce la transmiterea de la om la om.

Microbiologii au izolat pentru prima dată virușii Ebola de la oameni în timpul focarelor anterioare din DROC în 1976. (Virusul poartă numele râului Ebola din Congo.) În 2008, un focar de virus Ebola a avut loc în Uganda cu 149 de cazuri. În 1989 și 1996, focarele în rândul maimuțelor importate în Statele Unite din Filipine au fost cauzate de un alt virus Ebola, dar nu au fost asociate cu boli umane.

Cazurile înregistrate de virusul Marburg, un alt virus al febrei hemoragice, sunt rare. Primele cazuri au fost lucrători de laborator din Europa care au manipulat maimuțe verzi africane din Uganda. Patru focare au fost identificate în Africa între 1975 și 1998, implicând 2 până la 154 de persoane cu o mortalitate de 56%. În 2004, un focar a ucis 227 de persoane. Microbiologii au studiat multe animale, dar nu au descoperit încă rezervorul natural (sursa) virusurilor EHF și Marburg.

În 1993, un focar de criptosporidioză (krip-to-spo-rideoză) transmis prin alimentarea publică cu apă din Milwaukee, Wisconsin, a dus la boli diareice la aproximativ 403.000 de persoane. Microorganismul responsabil pentru acest focar a fost protozoarul Cryptosporidium (krip-to-spo-ri'de-um). Raportată pentru prima dată ca o cauză a bolilor umane în 1976, este responsabilă de până la 30% din bolile diareice din țările în curs de dezvoltare. În Statele Unite, transmiterea a avut loc prin apă potabilă, piscine și materiale spitalicești contaminate.

SIDA (sindromul imunodeficienței dobândite) a intrat în atenția publicului pentru prima dată în 1981, cu rapoarte din Los Angeles că câțiva bărbați tineri homosexuali au murit din cauza unui tip rar de pneumonie, cunoscut sub numele de pneumonie Pneumocystis (nii-mo-sis'tis). Acești bărbați au experimentat o slăbire severă a sistemului imunitar, care luptă în mod normal cu bolile infecțioase. Curând, aceste cazuri au fost corelate cu un număr neobișnuit de apariții ale unei forme rare de cancer, sarcomul Kaposi, în rândul tinerilor homosexuali. Creșteri similare ale acestor boli rare au fost găsite în rândul hemofililor și consumatorilor de droguri intravenoase.

Cercetătorii au descoperit rapid că cauza SIDA a fost un virus necunoscut anterior (vezi Figura Minciuna). Virusul, numit acum virus al imunodeficienței umane (HIV), distruge celulele T CD4+, un tip de globule albe importante pentru apărarea sistemului imunitar. Boala și moartea rezultă din microorganisme sau celule canceroase care altfel ar fi putut fi învinse de apărarea naturală a organismului. Până acum, boala a fost inevitabil fatală odată cu dezvoltarea simptomelor.

Studiind tiparele bolilor, cercetătorii medicali au descoperit că HIV se poate răspândi prin actul sexual, prin ace contaminate, de la mamele infectate la nou-născuți prin laptele matern și prin transfuzii de sânge - pe scurt, prin transmiterea fluidelor corporale de la o persoană la alta. Din moment ce

Caz clinic

Mutațiile se dezvoltă aleatoriu în bacterii: unele mutații sunt letale, unele nu au niciun efect, iar unele pot fi benefice. Odată ce aceste mutații se dezvoltă, descendenții celulelor părinte mutante poartă și ei aceeași mutație. Deoarece au un avantaj în prezența antibioticului, bacteriile care sunt rezistente la antibiotice le depășesc în scurt timp pe cele care sunt susceptibile la terapia cu antibiotice. Utilizarea pe scară largă a antibioticelor permite în mod selectiv să crească bacteriile rezistente, în timp ce bacteriile susceptibile sunt ucise. În cele din urmă, aproape întreaga populație de bacterii este rezistentă la antibiotic.

Medicul departamentului de urgență prescrie un alt antibiotic, vancomicina, care va ucide MRSA de la încheietura mâinii Andreei. De asemenea, îi explică Andreei ce este MRSA și de ce este important să afle de unde a dobândit Andrea bacteriile potențial letale.

Ce îi poate spune medicul de urgență Andreei despre MRSA?

1985, sângele folosit pentru transfuzii a fost de cca . - ■. cfiecK-rQ . prezența HIV și este acum destul de puțin probabil ca virusul să poată fi răspândit prin acest mijloc. , . ,

Până la sfârșitul anului 2010, peste 1 milion de oameni din Statele Unite trăiesc cu SIDA. Peste 50.000 de americani se infectează și 18.000C mor în fiecare an. Începând cu 2010, oficialii din domeniul sănătății au estimat că 1,3 milioane de americani sunt infectați cu HIV. În 2009, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a estimat că peste 33 de milioane de oameni din întreaga lume trăiesc cu HIV/SIDA și că 7500 de noi infecții apar în fiecare zi.

Din 1994, noile tratamente au prelungit durata de viață a persoanelor cu SIDA; cu toate acestea, aproximativ 40.000 de cazuri noi apar anual în Statele Unite. Majoritatea persoanelor cu SIDA fac parte din grupa de vârstă activă sexual. Deoarece partenerii heterosexuali ai bolnavilor de SIDA sunt expuși unui risc ridicat de infecție, oficialii de sănătate publică sunt îngrijorați de faptul că și mai multe femei și minorități vor contracta SIDA. În 1997, diagnosticele HIV au început să crească în rândul femeilor și minorităților. Dintre cazurile de SIDA raportate în 2009, 26% erau femei, iar 49% erau afro-americane.

În lunile și anii următori, oamenii de știință vor continua să aplice tehnici microbiologice pentru a-i ajuta să învețe mai multe despre structura virusului mortal HIV, cum este transmis, cum crește în celule și provoacă boli, cum pot fi direcționate medicamentele împotriva acestuia și dacă poate fi dezvoltat un vaccin eficient. Oficialii din domeniul sănătății publice s-au concentrat și pe prevenirea prin educație.

SIDA reprezintă una dintre cele mai formidabile amenințări pentru sănătate din acest secol, dar nu este prima epidemie gravă a unei boli cu transmitere sexuală. Sifilisul a fost, de asemenea, cândva o boală epidemică fatală. În 1941, sifilisul a cauzat aproximativ 14.000 de decese pe an în Statele Unite. Cu puține medicamente disponibile pentru tratament și fără vaccinuri care să o prevină, eforturile de a controla boala s-au concentrat în principal pe modificarea comportamentului sexual și pe utilizarea prezervativelor. Dezvoltarea eventuală a medicamentelor pentru tratarea sifilisului a contribuit semnificativ la prevenirea răspândirii bolii. Potrivit Centrelor pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC), cazurile raportate de sifilis au scăzut de la un record de 575.000 în 1943 la un minim istoric de 5979 de cazuri în 2004. De atunci, însă, numărul cazurilor a crescut. ,

Așa cum tehnicile microbiologice i-au ajutat pe cercetători în lupta împotriva sifilisului și a variolei, ele vor ajuta oamenii de știință să descopere cauzele noilor boli infecțioase emergente în secolul al XXI-lea. Fără îndoială vor apărea noi boli. Virusul Ebola și virusul gripal sunt exemple de viruși care își pot schimba abilitățile de a infecta diferite specii gazdă. Bolile infecțioase emergente vor fi discutate în continuare în capitolul 14 de la pagina 417.

Bolile infecțioase pot reapare din cauza rezistenței la antibiotice (vezi caseta din capitolul 16 la pagina 757) și prin utilizarea microorganismelor ca arme. (A se vedea caseta din capitolul 23 de la pagina 651.) Efalarea măsurilor de sănătate publică pentru infecțiile

controlate anterior a dus la cazuri neașteptate de tuberculoză, tuse convulsivă și difterie (vezi capitolul 24).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

V Diferențierea microbiotei normale și a bolilor infecțioase. 1-16*

De ce sunt importante biofiims? 1-17

Ce factori contribuie la apariția unei boli infecțioase? 1-18

* * *

„Bolile pe care le-am menționat sunt cauzate de viruși, bacterii, protozoare și prioni – tipuri de microorganisme. Această carte vă prezintă varietatea enormă de organisme microscopice. Vă arată cum microbiologii folosesc tehnici și proceduri specifice pentru a studia microbii care provoacă boli precum SIDA și diareea și boli care nu au fost încă descoperite. Veți afla, de asemenea, cum răspunde organismul la infecțiile microbiene și cum anumite medicamente combat bolile microbiene. În cele din urmă, veți afla despre numeroasele roluri benefice pe care le joacă microbii în lumea din jurul nostru.

Caz clinic rezolvat

Primul MRSA a fost MRSA asociat cu îngrijirea sănătății

(HA MRSA), transmisă între personal și pacienți din instituțiile medicale. În anii 1990, infecțiile cu o tulpină diferită genetic, MRSA asociată comunității (CA-MRSA), au apărut ca o cauză majoră a bolilor de piele în Statele Unite. CA-MRSA intră în abraziunile pielii de la suprafețele mediului sau de la alte persoane. Andrea nu a fost niciodată internată până acum, așa că pot exclude spitalul ca sursă de infecție. Cursurile ei de la facultate sunt toate online, așa că nici ea nu a contractat MRSA la universitate. Departamentul local de sănătate trimite pe cineva acasă la familia ei pentru a detecta bacteriile de acolo.

MRSA este izolat de canapeaua din sufragerie a Andreei, dar cum a ajuns acolo? După ce a vorbit cu familia, reprezentantul • de la departamentul de sănătate, știind că în rândul sportivilor au fost observate grupuri de infecții CA-MRSA, sugerează spălarea covorașelor folosite de gimnastele de la școala pe care o frecventează sora Andreei. Culturile revin pozitive pentru MRSA. Sora Andreei, deși nu era infectată, a transferat bacteriile de pe pielea ei pe canapea, unde Andrea și-a întins brațul. (O persoană poate purta MRSA pe piele fără a se infecta.) Bacteriile au intrat printr-o zgârietură pe încheietura mâinii Andreei.

Schița de studiu

MasteringwiCROBIOLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Microbii în viețile noastre (pag. 2)

Ființele vii prea mici pentru a fi văzute cu ochiul liber se numesc microorganisme.

Microorganismele sunt importante în menținerea echilibrului ecologic al Pământului.

Unele microorganisme trăiesc la oameni și la alte animale și sunt necesare pentru a menține sănătatea.

Unele microorganisme sunt folosite pentru a produce alimente și substanțe chimice.

Unele microorganisme provoacă boli.

Denumirea și clasificarea

Microorganisme (pag. 2-6)

Nomenclatură (pag. 3)

Într-un sistem de nomenclatură conceput de Garolus Linnaeus (1735), fiecărui organism viu i se atribuie două nume.

Cele două nume constau dintr-un gen și un epitet specific, ambele fiind subliniate sau italice.

Tipuri de microorganisme (pp. 3-6;

Bacteriile sunt organisme unicelulare. Deoarece nu au nucleu, celulele sunt descrise ca procariote.

Cele trei forme de bază majore ale bacteriilor sunt bacilul, cocul și spirala.

Majoritatea bacteriilor au un perete celular de peptidoglican; se divid prin fisiune binară și pot avea flageli.

Bacteriile pot folosi o gamă largă de substanțe chimice pentru alimentația lor.

Arheele constau din celule procariote; le lipsește peptidoglicanul în pereții celulari.

Arheile includ metanogene, halofile extreme și termofile extreme.

Ciupercile (ciuperci, mucegaiuri și drojdii) au celule eucariote (celule cu un nucleu adevărat). Majoritatea ciupercilor sunt multicelulare.

Ciupercile obțin nutrienți prin absorbția materialului organic din mediul lor.

Protozoarele sunt eucariote unicelulare.

Protozoarele se hrănesc prin absorbție sau ingerare prin structuri specializate.

Algele sunt eucariote unicelulare sau pluricelulare care se hrănesc prin fotosinteză.

Algele produc oxigen și carbohidrați care sunt folosiți de alte organisme.

Virușii sunt entități necelulare care sunt paraziți ai celulelor.

Virușii constau dintr-un miez de acid nucleic (ADN sau ARN) înconjurat de o înveliș proteic. Un plic poate înconjura haina.

Principalele grupuri de paraziți multicelulari ai animalelor sunt viermii plati și viermii rotunzi, numiți colectiv helminți.

Etapele microscopice din ciclul de viață al helminților sunt identificate prin proceduri microbiologice tradiționale.

Glassificarea microorganismelor (pag. 6)

Toate organismele sunt clasificate în bacterii, Archaea și Eukarya. Eukarya include protisti, ciuperci, plante și animale.

O scurtă istorie a microbiologiei (pag. 6-15)

Primele observații (pag. 6)

Robert Hooke a observat că pluta era compusă din „cutii mici"; a introdus termenul de celulă (1665).

Observațiile lui Hooke au pus bazele dezvoltării teoriei celulare, conceptul că toate viețuitoarele sunt compuse din celule.

Anton van Leeuwenhoek, folosind un microscop simplu, a fost primul care a observat microorganisme (1673).

Dezbaterea asupra generației spontane (pag. 6-8)

Până la mijlocul anilor 1880, mulți oameni credeau în generarea spontană, ideea că organismele vii ar putea apărea din materie nevii.

Francesco Redi a demonstrat că viermii apar pe carnea în descompunere numai atunci când muștele sunt capabile să depună ouă pe carne (1668).

John Needham a susținut că microorganismele pot apărea spontan din bulionul nutritiv încălzit (1745).

Lazzaro Spallanzani a repetat experimentele lui Needham și a sugerat că rezultatele lui Needham se datorau microorganismelor din aer care intrau în bulionul lui (1765).

Rudolf Virchow a introdus conceptul de biogeneză: celulele vii pot apărea numai din celule preexistente (1858).

Louis Pasteur a demonstrat că microorganismele sunt în aer peste tot și a oferit dovada biogenezei (1861).

Descoperirile lui Pasteur au condus la dezvoltarea tehnicilor aseptice utilizate în procedurile de laborator și medicale pentru prevenirea contaminării cu microorganisme.

Epoca de aur a microbiologiei (p. 8-11)

Știința microbiologiei a avansat rapid între 1857 și 1914.

Pasteur a descoperit că drojdiile fermentează zaharurile în alcool și că bacteriile pot oxida alcoolul în acid acetic.

Un proces de încălzire numit pasteurizare este folosit pentru a ucide bacteriile din unele băuturi alcoolice și lapte.

Agostino Bassi (1835) și Pasteur (1865) au arătat o relație cauzală între microorganisme și boală.

Joseph Lister a introdus utilizarea unui dezinfectant pentru curățarea rănilor chirurgicale pentru a controla infecțiile la oameni (1860).

Robert Koch a demonstrat că microorganismele provoacă boli. El a folosit o secvență de proceduri, numită acum postulatele lui Koch (1876), care sunt folosite astăzi pentru a demonstra că un anumit microorganism provoacă o anumită boală.

Într-o vaccinare, imunitatea (rezistența la o anumită boală) este conferită prin inoculare cu un vaccin.

În 1798, Edward Jenner a demonstrat că inocularea cu material de variolă vacă oferă oamenilor imunitate la variola.

Pe la 1880, Pasteur a descoperit că bacteriile avirulente ar putea fi folosite ca vaccin pentru holera aviară; el a inventat cuvântul vaccin.

Vaccinurile moderne sunt preparate din microorganisme vii avirulente sau agenți patogeni uciși, din componente izolate ale agenților patogeni și prin tehnici ADN recombinant.

Nașterea chimioterapiei moderne:

Visele unui „glonț magic” (pag. 11-12)

Chimioterapia este tratamentul chimic al unei boli.

22 Două tipuri de agenți chimioterapeutici sunt medicamente sintetice

' (preparate chimic în laborator) și antibiotice (substanțe produse în mod natural de bacterii și ciuperci pentru a inhiba creșterea altor microorganisme).

Paul Ehrlich a introdus o substanță chimică care conține arsenic numită salvarsan pentru a trata sifilisul (1910).

Alexander Fleming a observat că ciuperca Penicillium a inhibat creșterea unei culturi bacteriene. El a numit actrv e ingi edient penicilină (1928).

Penicilina a fost folosită clinic ca antibiotic din anii 1940.

Cercetătorii abordează problema microbilor rezistenți la medicamente.

Evoluții moderne în microbiologie (p. 12-15)

Bacteriologia este studiul bacteriilor, micologia este studiul ciupercilor, iar parazitologia este studiul protozoarelor și viermilor paraziți.

Microbiologii folosesc genomica, studiul tuturor genelor unui organism, pentru a clasifica bacteriile, ciupercile și protozoarele.

Studiul SIDA, analiza acțiunii interferonilor și dezvoltarea de noi vaccinuri se numără printre interesele actuale de cercetare în imunologie.

Tehnicile noi în biologia moleculară și microscopia electronică au oferit instrumente pentru dezvoltarea cunoștințelor noastre despre virologie.

Dezvoltarea tehnologiei ADN recombinant a contribuit la avansarea tuturor domeniilor microbiologiei.

Microbii și bunăstarea umană (pp. is-16)

Microorganismele degradează plantele și animalele moarte și reciclează elementele chimice pentru a fi utilizate de plantele și animalele vii.

Bacteriile sunt folosite pentru a descompune materia organică în canalizare.

Procesele de bioremediere folosesc bacterii pentru a curăța deșeurile toxice.

Bacteriile care provoacă boli la insecte sunt folosite ca control biologic al insectelor dăunătoare. Controalele biologice sunt specifice dăunătorului și nu dăunează mediului.

Utilizarea microbilor pentru a face produse precum alimente și substanțe chimice se numește biotehnologie.

Folosind ADN recombinant, bacteriile pot produce substanțe importante precum proteine, vaccinuri și enzime.

În terapia genică, virușii sunt utilizați pentru a transporta înlocuitori pentru genele defecte sau lipsă în celulele umane.

Bacteriile modificate genetic sunt folosite în agricultură pentru a proteja plantele de îngheț și insecte și pentru a îmbunătăți durata de conservare a produselor.

Microbii și bolile umane (PP. 16-21)

Toată lumea are microorganisme în și pe corp; acestea alcătuiesc microbiota normală sau flora.

Proprietățile producătoare de boli ale unei specii de microbi și rezistența gazdei sunt factori importanți pentru a determina dacă o persoană va contracta o boală.

Comunitățile bacteriene care formează straturi slim pe suprafețe se numesc biofilme.

O boală infecțioasă este una în care agenții patogeni invadează o gazdă susceptibilă.

- „O boală infecțioasă emergentă (EID) este o boală nouă7 sau în schimbare, care arată o creștere a incidenței în trecutul recent sau un potențial de creștere în viitorul apropiat.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Cum a apărut ideea de generare spontană?

Prezentați pe scurt rolul pe care îl joacă microorganismele în fiecare dintre următoarele:

combaterea biologică a dăunătorilor

reciclarea elementelor

microbiotă normală

tratarea apelor uzate

producția umană de insulină

producerea vaccinului

biofilme

În ce domeniu al microbiologiei s-ar potrivi cel mai bine următorii oameni de știință?

Cercetător Cine

Domeniu

- **d. Ehrlich**
- **e. Fleming**
- **f., Hooke**
- **g. Iwa nowski**
- **h. Iacov și Monod**
- **i. Jenner**
- **j. Koch**
- **k. Lancefield**
- **I. Lederberg și**

Tatum

- **m. Lister**
- **n. Pasteur**
- **o. Stanley**
- **p. van Leeuwenhoek**
- **q. Virchow**
- **r. Weizmann**

A descoperit că ADN-ul poate fi transferat de la o bacterie la alta

Generație spontană infirmată

Primul care caracterizează un virus

Primul care folosește dezinfectanți în procedurile chirurgicale

Mai întâi să observăm bacteriile

Mai întâi să observăm celulele din materialul vegetal și să le numești

Am observat că virușii sunt filtrabili

S-a dovedit că ADN-ul este materialul ereditar

S-a dovedit că microorganismele pot provoca boli

Aceste celule vii provin din celule vii preexistente

A arătat că genele codifică enzime

ADN animal îmbinat cu ADN bacterian

o. Studiază biodegradarea deșeurilor toxice **b. Studiază agentul cauzal al Ebola**

febră hemoragică

c. Studiază producția de proteine umane de către bacterii

d. Studiază simptomele SIDA

e. Studiază producția de toxină de către E coli

f. Studiază ciclul de viață al Cryptosporidium **g. Elaborează terapia genică pentru o boală** **h. Studiază ciuperca Candida albicans**

4. Potriviți microorganismele din coloana A cu descrierile lor din coloana B.

Biotehnologie

Imunologie

Ecologia microbiană

Genetica microbiană

Fiziologia microbiană

Biologie moleculară

Micologie

Virologie

Au folosit bacterii pentru a produce acetonă

A folosit primul chimioterapeutic sintetic

agent .

A propus un sistem de clasificare pentru streptococi bazat pe antigenele din pereții lor celulari

6. „Numele genului unei bacterii este „erwinia", iar epitetul specific este „amilovora". Scrieți corect numele științific al acestui organism. Folosind acest nume ca exemplu, explicați cum sunt alese denumirile științifice.

Coloana A

7. Este posibil să achiziționați următoarele microorganisme într-un magazin cu amănuntul. Furnizați un motiv pentru a cumpăra fiecare.

Bacillus thuringiensis

Saccharomyces

Coloana B

7. Procariotă fără perete celular de peptidoglican

DESENAȚI-O

experiment.

Arată unde au ajuns microbii din aer în cel al lui Pasteur

5. Potriviți oamenii din coloana A cu contribuția lor la progresul microbiologiei, în coloana B.

Coloana A **Coloana B**

o. Avery, MacLeod,

și McCarty

b. Beadle și Tatum

c. Berg

Vaccin dezvoltat împotriva variolei

A descoperit modul în care ADN-ul controlează sinteza proteinelor într-o celulă

A descoperit penicilina

Ce tip de microorganism are un perete celular de peptidoglican, are ADN care nu este conținut într-un nucleu și are flageli?

DĂ-I NUME

Alegere Multiplă

Care dintre următoarele este un nume științific?

Mycobacterium tuberculosis

Bacilul tuberculozei

Care dintre următoarele nu este o caracteristică a bacteriilor?

sunt procariote

au pereții celulari peptidoglicani

au aceeași formă

cresc prin fisiune binară

au capacitatea de a se mișca

Care dintre următoarele este cel mai important element al teoriei germenilor a bolii a lui Koch? Animalul prezintă simptome de boală când

animalul a fost în contact cu un animal bolnav.

animalul are o rezistență scăzută.

la animal se observă un microorganism.

un microorganism este inoculat în animal.

microorganismele pot fi cultivate de la animal.

ADN-ul recombinant este

ADN-ul în bacterii.

studiul modului în care funcționează genele.

ADN-ul rezultat atunci când genele a două organisme diferite sunt amestecate.

utilizarea bacteriilor în producerea alimentelor.

producerea de proteine de către gene.

Care dintre următoarele afirmații este cea mai bună definiție a biogenezei7.

Materia neiuă dă naștere unor organisme vii.

Celulele vii pot apărea numai din celule preexistente.

O forță vitală este necesară pentru viață.

Aerul este necesar pentru organismele vii.

Microorganismele pot fi generate din materie nevii.

Care dintre următoarele este o activitate benefică a microorganismelor?

Unele microorganisme sunt folosite ca hrană pentru oameni.

Unele microorganisme folosesc dioxid de carbon.

Unele microorganisme furnizează azot pentru creșterea plantelor.

Unele microorganisme sunt utilizate în procesele de tratare a apelor uzate.

toate cele de mai sus

S-a spus că bacteriile sunt esențiale pentru existența vieții pe Pământ. Care dintre următoarele este funcția esențială îndeplinită de bacterii?

controlează populațiile de insecte

furnizează direct hrană pentru oameni

descompune materialul organic și reciclează elementele

provoca boala

produce hormoni umani, cum ar fi insulina

Care dintre următoarele este un exemplu de bioremediere?

aplicarea bacteriilor de degradare a petrolului la o scurgere de petrol

aplicarea bacteriilor pe o cultură pentru a preveni deteriorarea cauzată de îngheț

fixarea azotului gazos în azot utilizabil

producerea de către bacterii a unei proteine umane cum ar fi interferonul

toate cele de mai sus

9 Concluzia lui Spallanzani despre generarea spontană a fost „contestată deoarece Lavoisier tocmai arătase că oxigenul este componenta vitală a aerului. Care dintre următoarele afirmații este adevărată?

Toată viața are nevoie de aer.

Doar organismele care cauzează boli au nevoie de aer.

Unii microbi nu au nevoie de aer.

Pasteur a ținut aerul departe de experimentele sale de biogeneză.

Lavoisier s-a înșelat.

10. Care dintre următoarele afirmații despre E. coli este falsă

E. coli a fost prima bacterie care cauzează boli identificată de Koch.

E. coli face parte din microbiota normală a oamenilor.

E. coli este benefică în intestinele umane.

O tulpină de E. coli care cauzează boli provoacă diaree cu sânge.

nici una dintre cele de mai sus

Gândire critică

Cum a condus teoria biogenezei pentru teoria germenilor a bolii?

Chiar dacă teoria germenilor a bolii nu a fost demonstrată până în 1876, de ce au susținut Semmelweis (1840) și Lister (1867) pentru utilizarea tehnicilor aseptice?

Găsiți cel puțin trei produse de supermarket făcute de microorganisme. (Sugestie: eticheta va indica numele științific al organismului sau va include cuvântul cultură, fermentat sau preparat.)

Oamenii credeau cândva că toate bolile microbiene vor fi controlate până în secolul XXI. Numiți o boală infecțioasă emergentă. Enumerați trei motive pentru care identificăm noi boli acum.

Aplicații clinice

Prevalența artritei în Statele Unite este de 1 la 100.000 de copii. Cu toate acestea, 1 din 10 copii din Lyme, Connecticut, a dezvoltat artrită între iunie și septembrie 1973. Allen Steere, reumatolog la Universitatea Yale, a investigat cazurile din Lyme și a constatat că 25% dintre pacienți și-au amintit că au avut o erupție cutanată în timpul episodului artritic și că boala poate fi tratată cu penicilină. Steere a concluzionat că aceasta a fost o nouă boală intecțioasă și nu a avut o cauză de mediu, genetică sau imunologică.

Care a fost factorul care l-a determinat pe Steere să ajungă la concluzia sa?

Care este boala?

De ce boala a fost mai răspândită între iunie și septembrie?

În 1864, Lister a observat că pacienții s-au recuperat complet după fracturile simple, dar că fracturile compuse au „consecințe dezastruoase” El știa că aplicarea fenolului (acidului carbolic) pe câmpurile din orașul Carlisle preveni îmbolnăvirea vitelor.

!aster a tratat fracturile compuse cu fenol, iar pacientii lui s-au vindecat fara complicatii. Cum a fost influențat Lister de opera lui Pasteur? De ce era încă nevoie de munca lui Koch?

Principii chimice

W

Putem vedea un copac putrezind și miros că laptele se acru, dar s-ar putea să nu realizăm ce se întâmplă la nivel microscopic. În ambele cazuri, microbii efectuează operațiuni chimice. Copacul putrezește atunci când microorganismele descompun lemnul. Laptele devine acru din cauza producției de acid lactic de către bacterii. Majoritatea activităților microorganismelor sunt rezultatul unei serii de reacții chimice.

Ca toate organismele, microorganismele folosesc nutrienții pentru a face blocuri chimice pentru creștere și alte funcții esențiale vieții. Pentru majoritatea microorganismelor, sintetizarea acestor blocuri de construcție necesită ca acestea să descompună substanțele nutritive și să utilizeze energia eliberată pentru a asambla fragmentele moleculare rezultate în noi substanțe.

Chimia microbilor este una dintre cele mai importante preocupări ale microbiologilor. Cunoașterea chimiei este esențială pentru a înțelege ce rol joacă microorganismele în natură, cum provoacă boli, cum sunt dezvoltate metodele de diagnosticare a bolii, cum apărarea organismului luptă împotriva infecțiilor și cum sunt produse antibioticele și vaccinurile pentru a combate efectele dăunătoare ale microbilor. Bacteriile Bacillus anthracis din fotografie formează o capsulă care nu este ușor digerată de celulele animale. După cum sa discutat în cazul clinic, aceste bacterii pot crește la mamifere evitând apărarea gazdei. Cercetătorii investighează modalități de a identifica substanțe chimice unice produse de B. anthracis și alte potențiale arme biologice pentru a detecta bioterorismul. Pentru a înțelege schimbările care au loc în microorganisme și schimbările pe care microbii le fac în lumea din jurul nostru, trebuie să știm cum se formează moleculele și cum interacționează.

Structura atomilor

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

2-1 Descrieți structura unui atom și relația acestuia cu proprietățile fizice ale elementelor.

Toată materia – fie că este aer, rocă sau un organism viu – este alcătuită din mici unități numite atomi. Un atom este cea mai mică componentă a unei substanțe pure care prezintă proprietăți fizice și chimice ale acelei substanțe; un atom nu poate fi subdivizat în substanțe mai mici fără a-și pierde proprietățile. Atomii interacționează între ei în anumite combinații pentru a forma molecule. Celulele vii sunt formate din molecule, dintre care unele sunt foarte complexe. Știința interacțiunii dintre atomi și molecule se numește chimie.

Atomii sunt cele mai mici unități de materie care intră în reacții chimice. Fiecare atom are un nucleu situat central și particule numite electroni care se mișcă în jurul nucleului în regiuni numite învelișuri de electroni (Figura 2.1). Nucleele majorității atomilor sunt stabili - adică nu se schimbă spontan - și nucleele nu participă la reacții chimice. Nucleul este format din particule încărcate pozitiv (+) numite protoni și particule neîncărcate (neutre) numite neutroni. Prin urmare, nucleul poartă o sarcină pozitivă netă. O sarcină este o proprietate a unor particule subatomice care produce o forță atractivă sau respingătoare între ele; particulele cu sarcină opusă se atrag unele pe altele, iar particulele cu aceeași sarcină

Caz clinic: Druming Up Dust

Jonathan, un baterist în vârstă de 52 de ani, face tot posibilul să ignore transpirația rece care îi izbucnește pe tot corpul. El și colegii săi de trupă cântă într-un club de noapte local din Philadelphia și aproape au terminat al doilea set al serii. Jonathan nu se simte bine de ceva vreme, de fapt; s-a simțit slăbit și cu respirația scurtă în ultimele 3 zile sau cam asa ceva. Jonathan ajunge până la sfârșitul cântecului, dar zgomotul din partea publicului care aplaudă și aplaudă pare să vină de departe. Se ridică să se încline și se prăbușește. Jonathan este internat la un departament local de urgență cu o febră ușoară și tremurări puternice. Îi poate spune asistentei de admitere că a avut și tuse uscată în ultimele zile. Medicul curant prescrie o radiografie toracică și o cultură a sputei. Jonathan este diagnosticat cu pneumonie bilaterală cauzată de Bacillus anthracis. Medicul curant este uimit de acest diagnostic.

Cum s-a infectat Jonathan cu B. anthracis? Citiți mai departe pentru a afla.

Electron (e) O

Figura 2.1 Structura unui atom. În această diagramă simplificată a unui atom de carbon, notați locația centrală a nucleului. Nucleul conține șase neutroni și șase protoni, deși nu toți protonii sunt vizibili în această vedere. Cei șase electroni se mișcă în jurul nucleului în regiuni numite învelișuri de electroni, prezentate aici ca cercuri.

se respinge unul pe altul. Neutronii și protonii au aproximativ aceeași greutate, care este de aproximativ 1840 de ori mai mare decât cea a unui electron. Sarcina electronilor este negativă (—), iar în toți atomii numărul de electroni este egal cu numărul de protoni. Deoarece sarcina pozitivă totală a nucleului este egală cu sarcina negativă totală a electronilor, fiecare atom este neutru din punct de vedere electric.

Numărul de protoni dintr-un nucleu atomic variază de la unu (într-un atom de hidrogen) la mai mult de 100 (în cei mai mari atomi cunoscuți). Atomii sunt adesea enumerați după numărul lor atomic, numărul de protoni din nucleu. Numărul total de protoni și neutroni dintr-un atom este greutatea atomică aproximativă a acestuia.

Elemente chimice

Toți atomii cu același număr de protoni se comportă chimic la fel și sunt clasificați ca fiind același element chimic. Fiecare element are propriul nume și un simbol cu una sau două litere, de obicei derivat din numele în engleză sau latină pentru element. De exemplu, simbolul pentru elementul hidrogen este H, iar simbolul pentru carbon este C. Simbolul pentru sodiu este Na — primele două litere ale numelui său latin, natrium — pentru a-l deosebi de azot, N, și de sulf, S. Există 92 de elemente naturale. Cu toate acestea, doar aproximativ 26 de elemente se găsesc în mod obișnuit în viețuitoare. Tabelul 2.1 enumeră unele dintre elementele chimice găsite în organismele vii.

Majoritatea elementelor au mai mulți izotopi — atomi cu numere diferite o! neutroni în nucleele lor. Toți izotopii unui element au același număr de protoni în nucleele lor, dar greutățile lor atomice diferă din cauza diferenței dintre numărul de neutroni. De exemplu, într-o probă naturală de oxigen, toți atomii conțin opt protoni. Cu toate acestea, 99,76% dintre atomi au opt neutroni, 0,04% conțin nouă neutroni, iar restul de 0,2% conțin zece neutroni. Prin urmare, cei trei izotopi care compun o probă naturală de oxigen au greutăți atomice de 16, 17 și 18, deși toți vor avea numărul atomic 8. Numerele atomice sunt scrise ca indice în stânga substanței chimice ale unui element.

„Hidrogenul, carbonul, azotul și oxigenul sunt cele mai abundente elemente chimice în organismele vii.

simbol. Greutățile atomice sunt scrise ca superscript deasupra numărului atomic. rIhus, izotopii naturali de oxigen sunt reprezentați ca „3O, ^O și „gO”. Izotopii anumitor elemente sunt extrem de utili în cercetarea biologică, diagnosticul medical, tratamentul unor tulburări și unele forme de sterilizare.

Configurații electronice

Într-un atom, electronii sunt aranjați în învelișuri de electroni, care sunt regiuni care corespund diferitelor niveluri de energie. „Aranjamentul se numește configurație electronică. Învelișurile sunt stratificate în afara nucleului și fiecare înveliș poate conține un număr maxim caracteristic de electroni - doi electroni în capacul cel mai interioară (nivelul de energie cel mai scăzut), opt electroni în cel de-al doilea înveliș și opt electroni în cel de-al treilea înveliș, dacă este cel mai exterior înveliș (de valență) al atomului. „Al patrulea, al cincilea și al șaselea înveliș de electroni pot găzdui fiecare câte 18 electroni, deși există câteva excepții de la această generalizare. Tabelul 2.2 prezintă configurațiile electronice pentru atomii unor elemente găsite în organismele vii.

— Învelișul exterior tinde să fie umplut cu numărul maxim de electroni. Un atom poate renunța, accepta sau împărtăși electroni cu alți atomi pentru a umple acest înveliș. Proprietățile chimice ale atomilor sunt în mare măsură o funcție de numărul de electroni din învelișul electronilor cel mai exterioară. Când învelișul său exterior este umplut, atomul este stabil din punct de vedere chimic sau inert: nu are tendința de a reacționa cu alți atomi. Heliul (numărul atomic 2) și neonul (numărul atomic 10) sunt exemple de atomi de gaze inerte ale căror învelișuri exterioare sunt umplute.

Când învelișul electron al unui atom este doar parțial umplut, atomul este instabil din punct de vedere chimic. Un astfel de atom reacționează cu alți atomi, iar această reacție depinde, în parte, de gradul în care nivelurile exterioare de energie sunt umplute. Observați numărul de electroni din nivelurile exterioare de energie ale atomilor din fabula 2.2. Vom vedea mai târziu cum se corelează numărul cu reactivitatea chimică a elementelor.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum diferă de „gC? Care este numărul atomic al fiecărui atom de carbon? Greutatea atomică? 2-1

Cum formează atomii moleculele: legături chimice

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

2-2 Definiți legătura ionică, legătura covalentă, legătura de hidrogen, greutatea moleculară și mol.

Când cel mai exterior nivel de energie al unui atom nu este complet umplut de electroni, vă puteți gândi la el ca având fie spații neumplute, fie electroni suplimentari în acel nivel de energie, în funcție de faptul dacă este mai ușor pentru atom să câștige sau să piardă electroni. De exemplu, un atom de oxigen, cu doi electroni în primul nivel de energie și șase în al doilea, are două spații neumplute în al doilea înveliș de electroni; un atom de magneziu are doi electroni în plus în învelișul său cel mai exterior. „Configurația cea mai stabilă din punct de vedere chimic pentru orice atom este aceea de a avea învelișul exterior umplut. Prin urmare, pentru ca acești doi atomi să atingă această stare, oxigenul trebuie să câștige

doi electroni, iar magneziul trebuie să piardă doi electroni. Deoarece toți atomii tind să se combine astfel încât electronii suplimentari din învelișul cel mai exterior al unui atom umple spațiile din învelișul cel mai exterior al celuilalt atom, oxigenul și magneziul se combină astfel încât învelișul cel mai exterior al fiecărui atom să aibă completa completa de opt electroni.

Valența sau capacitatea de combinare a unui atom este numărul de electroni suplimentari sau lipsă din învelișul său de electroni cel mai extern. De exemplu, hidrogenul are o valență de 1 (un spațiu neumplut sau un electron în plus), oxigenul are o valență de 2 (două spații neumplute), carbonul are o valență de 4 (patru spații neumplute sau patru electroni în plus), iar magneziul are o valență de 2 (doi electroni în plus).

Practic, atomii obțin întreaga completare de electroni în învelișurile lor energetice cele mai exterioare combinându-se pentru a forma molecule, care sunt formate din atomi din unul sau mai multe elemente. O moleculă care conține cel puțin două tipuri diferite de atomi, cum ar fi H2O (molecula de apă), se numește compus. În H2O, indicele 2 indică faptul că există doi atomi de hidrogen; absența unui indice indică faptul că există un singur atom de oxigen. Moleculele se mențin împreună deoarece electronii de valență ai atomilor care se combină formează forțe atractive, numite legături chimice, între nucleele atomice. Prin urmare, valența poate fi văzută și ca capacitatea de legare a unui element. Deoarece energia este necesară pentru formarea legăturilor chimice, fiecare legătură chimică posedă o anumită cantitate de energie chimică potențială.

TABEL 2. >2 Configurații electronice pentru atomii unora

Prima a doua a treia

Electron Electron Electron

Element Carcasă (2)* Carcasă (8)* Carcasă (8)*

Elemente găsite în organismele vii

Număr

de Valence Number Maxim

(Utermost) din Număr necompletat de

Diagrama Shell Electroni Spații :nr '' :°rn

1'1

- /' ■

cheresteaua dintre paranteze indică numărul maxim de electroni din învelișurile lor respective.

Pierderea de electroni

Câștig de alegeri

Atom de clor (acceptor de electroni)

Ioni de sodiu (Na-)

Ioni de clorură (CL)

Atom de sodiu

(donator de electroni)

(a) Un atom de sodiu (Na) pierde un electron la un acceptor de electroni și formează un ion de sodiu (Na+). Un atom de clor (Cl) acceptă un electron de la un donor de electroni pentru a deveni un ion de clorură (Cl-).

Ioni de sodiu Ioni de clorură Moleculă de clorură de sodiu

(Na+) (CC)

Na+ cr

NaCI

(b) Ionii de sodiu și clorură sunt atrași din cauza sarcinilor lor opozite și sunt ținuți împreună printr-o legătură ionică pentru a forma o moleculă de clorură de sodiu.

Figura 2.2 Formarea legăturii ionice.

[SJ Ce

este o legătură ionică?

În general, atomii formează legături într-unul din două moduri: fie prin câștigarea sau pierderea de electroni din învelișul lor exterior de electroni, fie prin împărțirea electronilor

exteriori. Când atomii au câștigat sau au pierdut electroni exteriori, legătura chimică se numește legătură ionică. Când electronii exteriori sunt împărțiți, legătura se numește legătură covalentă. Deși vom discuta separat despre legăturile ionice și covalente, tipurile de legături găsite de fapt în molecule nu aparțin în întregime niciunei categorii. În schimb, legăturile variază de la cele foarte ionice la cele foarte covalente.

Legături ionice

Atomii sunt neutri din punct de vedere electric atunci când numărul de sarcini pozitive (protoni) este egal cu numărul de sarcini negative (electroni). Dar atunci când un atom izolat câștigă sau pierde electroni, acest echilibru este deranjat. Dacă atomul câștigă electroni, acesta capătă o sarcină negativă generală; dacă atomul pierde electroni, capătă o sarcină generală pozitivă. Un astfel de atom (sau grup de atomi) încărcat negativ sau pozitiv se numește ion.

Luați în considerare următoarele exemple. Sodiul (Na) are 11 protoni și electroni II, cu un electron în învelișul său exterior de electroni. Sodiul tinde să piardă un singur electron exterior; este un donor de electroni figura 2.2a). Când sodiul donează un electron unui alt atom, acesta rămâne cu protoni II și doar 10 electroni și are astfel o sarcină totală de +1. Acest atom de sodiu încărcat pozitiv se numește ion de sodiu și este scris Na+. Clorul (Cl) are un total de

electroni, șapte dintre ei în învelișul exterior al electronilor. Deoarece acest înveliș exterior poate conține opt electroni, clorul tinde să preia un electron care a fost pierdut de un alt atom; este un acceptor de electroni (vezi Figura 2.2a). Prin acceptarea unui electron, clorul totalizează

electroni. Cu toate acestea, are încă doar 17 protoni în nucleul său, ionul de clorură are, prin urmare, o sarcină de — 1 și este scris ca Cl-.

Sarcinile opuse ale ionului de sodiu (Na+) și ale ionului de clorură (Cl-) se atrag reciproc. Atracția, o legătură ionică, ține cei doi atomi împreună și se formează o moleculă (Figura 2.2b). Formarea acestei molecule, numită clorură de sodiu (NaCl) sau sare de masă, este un exemplu comun de legare ionică. Astfel, o legătură ionică este o atracție între ionii cu sarcină opusă care îi ține împreună pentru a forma o moleculă stabilă. Cu alte cuvinte, o legătură ionică este o atracție între atomi în care un atom pierde electroni și un alt atom câștigă electroni. Legăturile ionice puternice, cum ar fi cele care țin împreună Nar și Cl- în cristale de sare, au o importanță limitată în celulele vii. Dar legăturile ionice mai slabe formate în soluții apoase (apă) sunt importante în reacțiile biochimice la microbi și alte organisme. De exemplu, legăturile ionice mai slabe își asumă un rol în anumite reacții antigenanticorpi, adică reacții în care moleculele produse de sistemul imunitar (anticorpi) se combină cu substanțe străine (antigeni) pentru a combate infecția.

Formula structurală Formula moleculară

Atom de hidrogen

Molecula de hidrogen

sau

HH

Atom de hidrogen

(a) O singură legătură covalentă între doi atomi de hidrogen

H

eu

sau H-C-H

eu

H

Figura 2.3 Formarea legăturii covalente. În dreapta sunt modalități mai simple de a reprezenta molecule. În formulele structurale, fiecare legătură covalentă este scrisă ca o linie dreaptă între simbolurile pentru doi atomi. În formulele moleculare, numărul de atomi din fiecare moleculă este notat prin indice.

CH4

Ce este o legătură covalentă?

În general, un atom a cărui înveliș electronic exterior este mai puțin de jumătate umplut va pierde electroni și va forma ioni încărcați pozitiv, numiți cationi. Exemple de cationi sunt ionii de potasiu (K^{+}), ionii de calciu (Ca^{2+}) și ionii de sodiu (Na^{+}). Când învelișul electron al unui atom este mai mult de jumătate umplut, atomul va câștiga electroni și va forma ioni încărcați negativ, numiți anioni. Exemple sunt ionul iodură (I^{-}), ionul clorură (Cl^{-}) și ionul sulfură (S^{2-}).

Legături covalente

O legătură covalentă este o legătură chimică formată din doi atomi care împart una sau mai multe perechi de electroni. Legăturile covalente sunt mai puternice și mult mai frecvente în organism decât sunt adevăratele legături ionice. În molecula de hidrogen, H_2, doi atomi de hidrogen au o pereche de electroni. Fiecare atom de hidrogen are propriul său electron plus un electron de la celălalt atom (Figura 2.3a). Perechea comună de electroni orbitează de fapt nucleele ambilor atomi. Prin urmare, învelișurile de electroni exterioare ale ambilor atomi sunt umplute. Atomii care au o singură pereche de electroni formează o singură legătură covalentă. Pentru simplitate, o singură legătură covalentă este exprimată ca o singură linie între atomi (H—H). Atomii care împart două perechi de electroni formează o legătură covalentă dublă, exprimată ca două linii simple (=). O legătură covalentă triplă, exprimată ca trei linii simple (=), apare atunci când atomii împart trei perechi de electroni.

Principiile legăturii covalente care se aplică atomilor aceluiași element se aplică și atomilor elementelor diferite.

Metanul (CH_4) este un exemplu de legătură covalentă între atomi de diferite elemente (Figura 2.3b). Învelișul exterior de electroni a atomului de carbon poate conține opt electroni, dar are doar patru; fiecare atom de hidrogen poate conține doi electroni, dar are doar unul. În consecință, în molecula de metan, atomul de carbon câștigă patru electroni de hidrogen pentru a-și completa învelișul exterior, iar fiecare atom de hidrogen își completează perechea împărțind un electron cu atomul de carbon. I .fiecare electron exterior al atomului de carbon orbitează atât nucleul de carbon cât și un nucleu de hidrogen. Fiecare electron de hidrogen orbitează atât propriul său nucleu, cât și nucleul de carbon.

Elemente precum hidrogenul și carbonul, ale căror învelișuri exterioare de electroni sunt hah Hied; formează destul de ușor legături covalente. De fapt, în organismele vii, carbonul formează aproape întotdeauna legături covalente; aproape niciodată nu devine un ion. Amintiți-vă: legăturile covalente se formează prin împărțirea electronilor între atomi. Legăturile ionice sunt pentru tracțiunea dintre atomi care au pierdut sau au câștigat electroni și, prin urmare, sunt încărcați pozitiv sau negativ.

Legături de hidrogen

O altă legătură chimică de importanță deosebită pentru toate organismele este legătura de hidrogen, în care un atom de hidrogen care este legat covalent de un atom de oxigen sau azot este atras de un alt atom de oxigen sau azot. Astfel de legături sunt slabe și nu leagă atomii în molecule. Cu toate acestea, ele servesc ca punți între diferite molecule sau între diferite porțiuni ale aceleiași molecule.

Bl Ce elemente chimice sunt de obicei implicate în legăturile de hidrogen?

Când hidrogenul se combină cu atomi de oxigen sau azot, nucleul relativ mare al acestor atomi de oxigen sau azot mai mari are mai mulți protoni și atrage electronul de hidrogen mai puternic decât nucleul mic de hidrogen. Astfel, într-o moleculă de apă (H_2O), toți electronii tind să fie mai aproape de nucleul de oxigen decât de nucleul de hidrogen. Ca urmare, porțiunea de oxigen a moleculei are o sarcină ușor negativă, iar porțiunea de hidrogen a moleculei are o sarcină ușor pozitivă (Figura 2.4a). Când capătul încărcat pozitiv al unei molecule este atras de capătul încărcat negativ al altei molecule, se formează o legătură de hidrogen (Figura 2.4b). Această atracție poate apărea și între hidrogen și alți atomi ai aceleiași molecule, în special în moleculele mari. Oxigenul și azotul sunt elementele cel mai frecvent implicate în legăturile de hidrogen.

Legăturile de hidrogen sunt considerabil mai slabe decât legăturile ionice sau covalente; au doar aproximativ 5% din puterea legăturilor covalente. În consecință, legăturile de hidrogen se formează și se rup relativ, ușor. Această proprietate explică legătura temporară care are loc între anumiți atomi de molecule mari și complexe, cum ar fi proteinele și acizii nucleici. Chiar dacă legăturile de hidrogen sunt relativ slabe, moleculele mari care conțin câteva sute de aceste legături au o rezistență și o stabilitate considerabile. Un rezumat al legăturilor ionice, covalente și de hidrogen este prezentat în Tabelul 2.3.

Greutate moleculară și alunițe

Ați văzut că formarea de legături are ca rezultat crearea de molecule. iMoleculele sunt adesea discutate în termeni de unități de măsură numite greutate moleculară și moli. Greutatea moleculară a unei molecule este suma greutăților atomice ale tuturor atomilor ei. Pentru a raporta nivelul molecular la nivelul laboratorului, folosim o unitate numită mol. Un mol dintr-o substanță este greutatea sa moleculară exprimată

în grame. De exemplu, 1 mol de apă cântărește 18 grame deoarece greutatea moleculară a H2O este 18 sau [(2 X 1) + 16].

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Diferențiază o legătură ionică de o legătură covalentă. 2.2

Reacții chimice

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

2- 3 Diagrama a trei tipuri de bază de reacții chimice.

După cum am spus mai devreme, reacțiile chimice implică realizarea sau ruperea legăturilor dintre atomi. După o reacție chimică, numărul total de atomi rămâne același, dar există noi molecule cu proprietăți noi deoarece atomii au fost rearanjați.

Energia în reacții chimice

Energia chimică apare ori de câte ori se formează sau se rup legăturile dintre atomi în timpul reacțiilor chimice. Toate legăturile chimice necesită energie atunci când sunt rupte și eliberează energie chimică atunci când se formează. O reacție chimică care absoarbe mai multă energie decât eliberează se numește reacție endergonică (endo = interior), ceea ce înseamnă că energia este direcționată spre interior. O reacție chimică care eliberează mai multă energie decât o absoarbe se numește reacție exergonică (exo = afară), ceea ce înseamnă că energia este direcționată spre exterior.

În această secțiune ne vom uita la trei tipuri de bază de reacții chimice comune tuturor celulelor vii. Familiarizându-vă cu aceste reacții, veți putea înțelege reacțiile chimice specifice pe care le vom discuta mai târziu, în special în capitolul 5.

[Bioremediere—Bacterii Curăță Poluarea

Deși multe bacterii au cerințe alimentare similare cu ale noastre - de aceea provoacă alterarea alimentelor - altele metabolizează (sau procesează chimic) substanțe care sunt toxice pentru majoritatea plantelor și animalelor: metale grele, sulf, petrol și mercur.

OH din mediu poate proveni din uleiul natural care se scurge din zăcămintele de petrol și poate proveni și din scurgerile de petrol. Deși există bacterii care degradează uleiul în sol și sedimente, aceste bacterii sunt într-un număr atât de mic încât nu pot face față eficient contaminării pe scară largă. Oamenii de știință lucrează acum pentru a îmbunătăți eficiența luptătorilor naturali împotriva poluării. Utilizarea bacteriilor pentru a degrada poluanții se numește bioremediere.

Unul dintre cele mai promițătoare succese pentru bioremediere a avut loc pe o plajă din Alaska în urma scurgerii de petrol Exxon Valdez în 1989. Mai multe bacterii Pseudomonas care apar în mod natural sunt capabile să degradeze petrolul pentru necesarul de carbon și energie. În prezența aerului, ei elimină doi atomi de carbon simultan dintr-o moleculă mare de petrol (vezi figura).

Bacteriile degradează uleiul prea încet pentru a curăța o scurgere de petrol. Cu toate acestea, oamenii de știință au găsit o modalitate foarte simplă de a accelera procesul: pur și simplu au aruncat îngrășăminte obișnuite pentru plante cu azot și fosfor (amplificatori biologici) pe o plajă de testare. Numărul bacteriilor care degradează petrolul a crescut în comparație cu cel de pe plajele de control nefertilizate, iar petrolul a fost îndepărtat rapid de pe plaja de testare.

Această tehnică funcționează pe uscat, dar nu a fost studiată în apă deschisă. Trebuie abordate o serie de întrebări: va rămâne îngrășământul lângă ulei? Îngrășămintele vor stimula algele toxice?

Hidrocarbură saturată tipică găsită în petrol

Unitatea cu două atomi de carbon poate fi metabolizată în celulă

Reacții de sinteză

Când doi sau mai mulți atomi, ioni sau molecule se combină pentru a forma molecule noi și mai mari, reacția se numește reacție de sinteză. Ib sintetiza înseamnă a pune împreună, iar o reacție de sinteză formează noi legături. Reacțiile de sinteză pot fi exprimate în

Substanțele care se combină, A și B, se numesc reactanți; substanța formată din combinație, AB, este produsul. Săgeata indică direcția în care se desfășoară reacția.

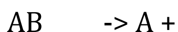
Căile reacțiilor de sinteză în organismele vii sunt numite colectiv reacții anabolice sau pur și simplu anabolism (an-ab'o-lizm). Combinarea moleculelor de zahăr pentru a forma amidon și a aminoacizilor pentru a forma proteine sunt două exemple de anabolism.

Reacții de descompunere

Reversul unei reacții de sinteză este o reacție de descompunere. jo descompune înseamnă a descompune în părți mai mici, iar într-o reacție de „ecompunere legăturile sunt rupte. De obicei, reacțiile de descompunere împart moleculele mari în molecule, ioni sau atomi mai mici. O reacție de descompunere are loc în felul următor:

Pauze

jos în



AB -> A +

Molecula AB Atoni, ion,

sau molecula A

Reacțiile de descompunere care apar în organismele vii sunt numite colectiv reacții catabolice sau pur și simplu catabolism (ka-tab o-lizm). Un exemplu de catabolism este descompunerea zaharozei (zahăr de masă) în zaharuri mai simple, glucoză și fructoză, în timpul digestiei. Descompunerea bacteriană a petrolului este discutată în caseta de mai sus.

Reacții de schimb

Toate reacțiile chimice se bazează pe sinteză și descompunere. Multe reacții, suma ca reacții de schimb, sunt de fapt parțial sinteze și parțial descompunere. O reacție de schimb funcționează în felul următor:

Recombina

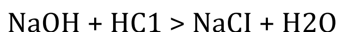
a forma



AB + CD -> AD + BC

În primul rând, legăturile dintre A și B și dintre C și D sunt rupte într-un proces de descompunere. Se formează apoi noi legături între A și D și între B și C într-un proces de

sinteză. De exemplu, o reacție de schimb are loc atunci când hidroxidul de sodiu (NaOH) și acidul clorhidric (HC1) reacționează pentru a forma sare de masă (NaCl) și apă (H2O), după cum urmează:



NaOH + HC1 > NaCI + H2O

Reversibilitatea reacțiilor chimice

Toate reacțiile chimice sunt, teoretic, reversibile; adică pot apărea în ambele direcții. În practică, însă, unele reacții fac acest lucru mai ușor decât altele. O reacție chimică care este ușor reversibilă (când produsul final poate reveni la moleculele originale) este denumită reacție reversibilă și este indicată de două săgeți, așa cum se arată aici:

Se combină pentru a forma



A + B   AB

Se descompune în

Unele reacții reversibile apar deoarece nici reactanții, nici produșii fini nu sunt foarte stabili. Alte reacții se inversează numai în condiții speciale:

Căldură



A + B   AB

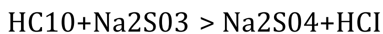
Apă

Orice este scris deasupra sau sub săgeți indică condiția specială în care are loc reacția în acea direcție. În acest caz, A și B reacționează pentru a produce AB numai atunci când se aplică căldură, iar AB se descompune în A și B numai în prezența apei. Vezi Figura 2.8 la pagina 38 pentru un alt exemplu.

În capitolul 5 vom examina diferiții factori care afectează reacțiile chimice.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Această reacție chimică de mai jos este folosită pentru a elimina clorul din apă. Ce tip de reacție este? 2 3



HC10+Na2S03 > Na2S04+HCI

Molecule biologice importante

Biologii și chimiștii împart compușii în două clase principale: anorganici și organici. Compușii anorganici sunt definiți ca molecule, de obicei mici și simple din punct de vedere structural, care de obicei nu au carbon și în care legăturile ionice pot juca un rol important. Compușii anorganici includ apă, oxigen molecular (O_2), dioxid de carbon și multe săruri, acizi și baze.

Compușii organici conțin întotdeauna carbon și hidrogen și sunt de obicei complexi din punct de vedere structural. Carbonul este un element unic deoarece are patru electroni în învelișul său exterior și patru spații neumplute. Se poate combina cu o varietate de atomi, inclusiv alți atomi de carbon, pentru a forma lanțuri și inele drepte sau ramificate. Lanțurile de carbon formează baza multor compuși organici din celulele vii, inclusiv zaharuri, aminoacizi și vitamine. Compușii organici sunt ținuți împreună în cea mai mare parte sau în întregime prin legături covalente. Unele molecule organice, cum ar fi polizaharidele, proteinele și acizii nucleici, sunt foarte mari și conțin de obicei mii de atomi. Astfel de molecule gigantice se numesc macromolecule. În secțiunea următoare vom discuta despre compușii anorganici și organici care sunt esențiali pentru celule. .

Compuși anorganici

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

2 4 Enumerați câteva proprietăți ale apei care sunt importante pentru sistemele vii.

2 5 Definiți acid, bază, sare și pH.

Apă

Toate organismele vii au nevoie de o mare varietate de compuși anorganici pentru creștere, reparare, întreținere și reproducere. Apa este unul dintre cei mai importanți, precum și unul dintre cei mai abundenți dintre acești compuși și este deosebit de vitală pentru microorganisme. În afara celulei, nutrienții sunt dizolvați în apă, ceea ce facilitează trecerea lor prin membranele celulare. Și în interiorul celulei, apa este mediul pentru majoritatea reacțiilor chimice. De fapt, apa este de departe cea mai abundentă componentă a aproape tuturor celulelor vii. Apa reprezintă cel puțin 5-95% din fiecare celulă, în medie între 65% și 75%. Simplu spus, niciun organism nu poate supraviețui fără apă.

Apa are proprietăți structurale și chimice care o fac deosebit de potrivită pentru rolul său în celulele vii. După cum am discutat, sarcina totală a moleculei de apă este neutră, dar regiunea de oxigen a moleculei are o sarcină ușor negativă, iar regiunea de hidrogen are o sarcină ușor pozitivă (vezi Figura 2.4a). Orice moleculă care are o astfel de distribuție inegală a sarcinilor se numește moleculă polară. Natura polară a apei îi conferă patru caracteristici care o fac un mediu util pentru celulele vii.

În primul rând, fiecare moleculă de apă este capabilă să formeze patru legături de hidrogen cu moleculele de apă din apropiere (vezi Figura 2.4b). Această proprietate are ca rezultat o atracție puternică între moleculele de apă. Din cauza acestei puternice atracții, este necesară o cantitate mare de căldură pentru a separa moleculele de apă unele de altele pentru a forma vapori de apă; astfel, apa are un punct de fierbere relativ ridicat (100°C). Deoarece apa are un punct de fierbere atât de mare, există în stare lichidă pe cea mai mare parte a suprafeței Pământului. În plus, legătura de hidrogen dintre moleculele de apă afectează densitatea apei, în funcție de faptul că aceasta apare sub formă de gheață sau lichid. De exemplu, legăturile de hidrogen din structura cristalină a apei (gheață) fac ca gheața să ocupe mai mult spațiu. Ca rezultat, gheața are mai puține molecule decât un volum egal de apă lichidă. Acest lucru îi face cristalin

structură mai puțin densă decât apa lichidă. Din acest motiv, gheața plutește și poate servi ca strat izolator pe suprafețele lacurilor și pâraielor care adăpostesc organisme vii.

În al doilea rând, polaritatea apei o face un excelent mediu de dizolvare sau solvent. Multe substanțe polare sunt supuse disocierii sau separării în molecule individuale în apă, adică se dizolvă. Partea negativă a moleculelor de apă este atrasă de partea pozitivă a moleculelor din substanță dizolvată, iar partea pozitivă a moleculelor de apă este atrasă de partea negativă a moleculelor de dizolvat. Substanțele (cum ar fi sărurile) care sunt compuse din atomi (sau grupuri de atomi) ținute împreună prin legături ionice tind să se disocieze în cationi și anioni separați în apă. Astfel, polaritatea apei permite moleculelor din multe substanțe diferite să se separe și să devină înconjurate de molecule de apă (Figura 2.5).

În al treilea rând, polaritatea explică rolul caracteristic al apei ca reactant sau produs în multe reacții chimice. Polaritatea sa facilitează scindarea și reunirea ionilor de hidrogen (H^) și a ionilor de hidroxid (OH-). Apa este un reactant cheie în procesele digestive ale organismelor, prin care moleculele mai mari sunt descompuse în altele mai mici. Moleculele de apă sunt, de asemenea, implicate în reacțiile de sinteză; apa este o sursă importantă de hidrogen și oxigen care sunt încorporate în numeroși compuși organici din celulele vii.

■ pe de altă parte, legătura relativ puternică de hidrogen dintre moleculele de apă (vezi Figura 2.4b) face ca apa să aibă o temperatură excelentă în exterior. În comparație cu multe alte substanțe, o anumită cantitate de apă necesită un câștig mare de căldură pentru a-și crește temperatura și o mare pierdere de căldură pentru a-și scădea temperatura. În mod normal, absorbția tetinei de către molecule le crește energia cinetică și astfel crește rata de mișcare și reactivitatea acestora. În apă, cu toate acestea, absorbția de căldură rupe mai întâi legăturile de hidrogen, mai degrabă decât creșterea vitezei de mișcare. Prin urmare, trebuie aplicată mult mai multă căldură pentru a crește temperatura apei decât pentru a crește temperatura unui lichid nelegat de hidrogen. Reversul este adevărat pe măsură ce apa se răcește. Astfel, apa menține mai ușor o temperatură constantă decât alți solvenți și tinde să protejeze o celulă de fluctuațiile temperaturii mediului.

Acizi, baze și săruri

După cum am văzut în Figura 2.5, atunci când sărurile anorganice precum clorura de sodiu (NaCI) sunt dizolvate în apă, acestea suferă ionizare sau disociere; adică se despart în ioni. Substanțele numite acizi și baze prezintă un comportament similar.

Un acid poate fi delimitat ca o substanță care se disociază în unul sau mai mulți ioni de hidrogen (H) și unul sau mai mulți ioni negativi (anioni). Astfel, un acid poate fi definit și ca un donor de protoni (H+). O bază se disociază în unul sau mai mulți ioni pozitivi (cationi) plus unul sau mai mulți ioni hidroxid (OH) încărcați negativ care pot accepta sau se pot combina cu protoni. 7hus, hidroxidul de sodiu (NaOH) este o bază deoarece s-a disociat pentru a elibera OH, care are o atracție puternică pentru protoni și este printre cei mai importanți acceptori de protoni. O sare este o substanță care se disociază în apă în cationi și anioni, niciunul dintre care nu este H+ sau OH. Figura 2.6 prezintă exemple comune ale fiecărui tip de compus și modul în care se disociază în apă.

Echilibrul acido-bazic: Conceptul de pH

Un organism trebuie să mențină un echilibru destul de constant de acizi și baze pentru a rămâne sănătos. De exemplu, dacă o anumită concentrație de acid sau bază este prea mare sau prea scăzută, enzimele își schimbă forma și nu mai promovează eficient reacțiile chimice într-o celulă. În mediul apos din organism, acizii se disociază în hidrogenioni (H) și anioni. Bazele, în schimb, se disociază în ioni de hidroxid (OH) și cationi. Mai mulți ioni de hidrogen care sunt liberi într-o soluție. cu atât soluția este mai acidă. În schimb, cu cât sunt mai mulți ioni de hidroxid într-o soluție, cu atât este mai bazic sau alcalin.

Reacțiile biochimice – adică reacțiile chimice din sistemele vii – sunt extrem de sensibile chiar și la schimbările mici ale acidității sau alcalinității mediului în care apar. De fapt, H și OH sunt implicați în aproape toate procesele biochimice și orice abatere de la banda îngustă a unei celule de concentrații normale de H și OH poate modifica dramatic funcțiile celulei. Din acest motiv, acizii și bazele care se formează continuu într-un organism trebuie menținute în echilibru.

Este convenabil să se exprime cantitatea de H dintr-o soluție printr-o scară de pH logaritmică, care variază de la 0 la 14 (Figura 2.7). Termenul pH înseamnă potențialul hidrogenului. Pe o scară logaritmică, o modificare a unui număr întreg reprezintă o schimbare de zece ori față de concentrația anterioară. Astfel, o soluție cu pH 1 are de zece ori mai mulți ioni de hidrogen decât o soluție cu pH 2 și are de 100 de ori mai mulți ioni de hidrogen decât o soluție cu pH 3.

pH-ul unei soluții este calculat ca -log10[H+], logaritmul negativ la baza 10 al concentrației ionilor de hidrogen (notat prin paranteze), determinat în moli pe litru [H+]. De exemplu, dacă concentrația de H+ a unei soluții este 1,0 X 10-4 moli/litru sau 10 4, pH-ul acesteia este egal cu — log1010-4 = -(—4) = 4; este vorba despre valoarea pH-ului vinului (vezi Anexa B). Valorile pH-ului unor fluide ale corpului uman și ale altor substanțe comune sunt, de asemenea, prezentate în Figura 2.7. În laborator, de obicei, vei măsura pH-ul unei soluții cu un pH-metru sau cu hârtii de testare chimică.

Soluțiile acide conțin mai mult H+ decât OH' și au un pH mai mic de 7. Dacă o soluție are mai mult OH" decât H', este o soluție bazică sau alcalină. În apă pură, un mic procent din molecule sunt disociate în H+ și OH , deci are un pH de 7. Deoarece concentrațiile de H ' și OH' sunt egale, pH-ul soluției este considerat neutru.

Rețineți că pH-ul unei soluții poate fi modificat. Putem crește aciditatea acestuia adăugând substanțe care vor crește concentrația ionilor de hidrogen. Pe măsură ce un organism viu preia nutrienți, desfășoară reacții chimice și excretă deșeuri, echilibrul său de acizi și baze tinde să se schimbe, iar pH-ul fluctuează. Din fericire, organismele posedă soluții tampon naturale pentru pH, compuși care ajută la prevenirea modificărilor drastice ale pH-ului. Dar pH-ul apei și solului mediului nostru poate fi alterat de deșeurile de la organisme, poluanții din industrie sau îngrășămintele folosite în câmpurile agricole sau grădini. Când bacteriile sunt cultivate într-un mediu de laborator, ele excretă deșeuri, cum ar fi acizii, care pot modifica pH-ul mediului. Dacă acest efect ar continua, mediul ar deveni suficient de acid pentru a inhiba enzimele bacteriene și a ucide bacteriile. Pentru a preveni această problemă, soluții tampon de pH sunt adăugate în mediul de cultură. Un tampon de pH foarte eficient pentru unele medii de cultură utilizează un amestec de K2lIPO4 și KH_2PO_4 (vezi Tabelul 6.3, pagina 163).

Figura 2.7 Scala pH.

Pe măsură ce valorile pH-ului scad de la 14 la 0, concentrația de H4 crește. Astfel, cu cât pH-ul este mai scăzut, cu atât soluția este mai acidă; cu cât pH-ul este mai mare, cu atât soluția este mai bazică. Dacă valoarea pH-ului unei soluții este sub 7, soluția este acidă; dacă pH-ul este peste 7, soluția este bazică (alcalină). Valorile aproximative ale pH-ului unor fluide ale corpului uman și ale substanțelor comune sunt afișate lângă scara pH.

La ce pH sunt egale concentrațiile de H+ și OH?

Diferiții microbi funcționează cel mai bine în diferite intervale de pH, dar majoritatea organismelor cresc cel mai bine în medii cu o valoare a pH-ului între 6,5 și 8,5. Dintre microbi, ciupercile sunt cele mai capabile să tolereze condițiile acide, în timp ce procariotele numite cianobacterii tind să se descurce bine în habitatele alcaline. Propionibacterium acnes (pro-pe-on-e-bak-ti're-um ak'nez), o bacterie care provoacă acneea, are ca mediu natural pielea umană, care tinde să fie uşor acidă, cu un pH de aproximativ 4. 7hiobacillus ferrooxidans (thi-o-ba-silTus fer-ro-oks) produce un sulf elemental care metabolizează sulful, care metabolizează sulful şi produce sulf elemental. acid (H_2SO_4). Intervalul său de pH pentru creștere optimă este de la 1 la 3,5. Acidul sulfuric produs de această bacterie în apa de mină este important în dizolvarea uraniului și cuprului din minereul de calitate scăzută (vezi capitolul 28).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce este importantă polaritatea unei molecule de apă? 2-4

Antiacidele neutralizează acidul prin următoarea reacție. $Mg(OH)_2 + 2HCI\ MgCI_2 + H_2O$ Identificați acidul, baza și sarea. 2-5

Compuși organici

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

2-6 Distingeți compușii organici și anorganici.

2-7 Definiți grupul funcțional.

2-8 Identificați elementele de bază ale carbohidraților.

2 9 Diferențiază lipidele simple, lipidele complexe și steroizii.

2-10 Identificați blocurile de construcție și structura proteinelor.

2-11 Identificați blocurile de construcție ale acizilor nucleici.

2 12 Descrieți rolul ATP în activitățile celulare.

Compușii anorganici, cu excepția apei, constituie aproximativ 1-1,5% din celulele vii. Aceste componente relativ simple, ale căror molecule au doar câțiva atomi, nu pot fi folosite de celule pentru a îndeplini funcții biologice complexe. Moleculele organice, ai căror atomi de carbon se pot combina într-o varietate enormă de moduri cu alți atomi de carbon și cu atomi ai altor elemente, sunt relativ complexe și, prin urmare, sunt capabile de funcții biologice mai complexe.

Structură și Chimie

La formarea moleculelor organice, cei patru electroni exteriori ai carbonului pot participa la până la patru legături covalente, iar atomii de carbon se pot lega între ei pentru a forma structuri cu catenă liniară, cu lanț ramificat sau inelar.

Pe lângă carbon, cele mai comune elemente din compușii organici sunt hidrogenul (care poate forma o singură legătură), oxigenul (două legături) și azotul (trei legături). Sulful (două legături) și fosforul (cinci legături) apar mai rar. Alte elemente se găsesc, dar numai în relativ puțini compuși organici. Elementele care sunt cele mai abundente în organismele vii sunt aceleași cu cele care sunt cele mai abundente în compușii organici (vezi Tabelul 2.1).

Lanțul de atomi de carbon dintr-o moleculă organică se numește schelet de carbon; este posibil un număr mare de combinații sau schelete de carbon. Majoritatea acestor atomi de carbon sunt legați de atomi de hidrogen. Legarea altor elemente cu carbonul și hidrogenul formează grupe funcționale caracteristice, grupuri specifice de atomi care sunt cel mai frecvent implicate în acțiuni chimice și sunt responsabile pentru majoritatea proprietăților chimice caracteristice și multe dintre proprietățile fizice ale unui anumit compus organic (Tabelul 2.4).

Diferitele grupe funcționale conferă proprietăți diferite moleculelor organice. De exemplu, gruparea hidroxil a alcoolilor este hidrofilă (iubitoare de apă) și astfel atrage moleculele de apă

Grupuri funcționale reprezentative și

TABELUL 2M Compuși în care se găsesc

R—C—NH2

H

;	Ester	Bacterian și
r—q	z	plasmă eucariotă
\q.— r'		membrane
H	H	Plasmă arheală
I	I	membrane

R- C—O — C -R'

! ' ea

HH

Metabolismul energetic; structura proteinelor

Acizi organici, lipide, proteine

0..

--O —p = o I

L ... P~ ;

Într-o aldehidă, un C —O se află la capătul unei molecule, spre deosebire de C — 0 intern dintr-o cetonă.

la ea. Această atracție ajută la dizolvarea moleculelor organice care conțin grupări hidroxil. Deoarece gruparea carboxil este o sursă de ioni de hidrogen, moleculele care o conțin au proprietăți acide. Grupările amino, dimpotrivă, funcționează ca baze, deoarece acceptă cu ușurință ioni de hidrogen. Gruparea sulfhidril ajută la stabilizarea structurii complicate a multor proteine.

Grupurile funcționale ne ajută să clasificăm compușii organici. De exemplu, grupa -OH este prezentă în fiecare dintre următoarele molecule:

H

-C-0

H

metanol

H OH H

Izopropanol

Deoarece reactivitatea caracteristică a moleculelor se bazează pe grupa —OH, acestea sunt grupate într-o clasă numită alcooli. Grupa „OH” se numește grupare hidroxil și nu trebuie confundată cu ionul hidroxid (OH) al bazelor.

Când o clasă de compuși este caracterizată de un anumit grup funcțional, litera R poate fi folosită pentru a reprezenta restul moleculei. De exemplu, alcoolii în general se pot scrie R—OH.

Frecvent, într-o singură moleculă se găsesc mai mult de o grupare funcțională. De exemplu, o moleculă de aminoacid conține atât grupări amino, cât și grupări carboxil. Aminoacidul glicina are următoarea structură:

O 1-
grupare carboxil

Majoritatea compușilor organici găsiți în organismele vii sunt destul de complexi; un număr mare de atomi de carbon formează scheletul și multe grupe funcționale sunt atașate. În moleculele organice, este important ca fiecare dintre cele patru legături ale carbonului să fie satisfăcută (atașată la un alt atom) și ca fiecare dintre atomii atașați să aibă numărul său caracteristic de legături satisfăcut. Din acest motiv, astfel de molecule sunt stabile din punct de vedere chimic.

Moleculele organice mici pot fi combinate în molecule foarte mari numite macromolecule (macro = mare). Macromoleculele sunt de obicei polimeri (poli = mulți; mers - părți): polimerii sunt formați prin legarea covalentă a mai multor molecule mici repetate numite monomeri {mono = unu). Când doi monomeri se unesc, reacția implică de obicei eliminarea

unui atom de hidrogen dintr-un monomer și a unei grupări hidroxil din celălalt; atomul de hidrogen și gruparea hidroxil se combină pentru a produce apă:



R— OH + OH —Rz > R—R' + H_2O

Acest tip de reacție de schimb se numește sinteza de deshidratare (de = din; hidro = apă), sau reacție de condensare, deoarece se eliberează o moleculă de apă (Figura 2.8a). Macromolecule precum carbohidrații, lipidele, proteinele și acizii nucleici sunt asamblate în celulă, în esență prin sinteza deshidratării. Cu toate acestea, și alte molecule trebuie să participe pentru a furniza energie pentru formarea legăturilor. ATP, principalul furnizor de energie al celulei, este discutat la sfârșitul acestui capitol.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Definiți organic. 2-6

Adăugați funcționarea corespunzătoare! grup(e) la grupa etil de mai jos pentru a produce fiecare dintre următorii compuși: etanol, acid acetic, acetaldehidă, etanolamină, dietil eter. 2-7

Carbohidrați

Carbohidrații sunt un grup mare și divers de compuși organici care include zaharuri și amidon. Carbohidrații îndeplinesc o serie de funcții majore în sistemele vii. De exemplu, un tip de zahăr (dezoxiriboză) este un bloc de construcție a acidului dezoxiribonucleic (ADN), molecula care transportă informații ereditare. Alte zaharuri sunt necesare pentru pereții celulari. Carbohidrații simpli sunt utilizați în sinteza aminoacizilor și a grăsimilor sau a substanțelor asemănătoare grăsimilor, care sunt utilizați pentru a construi membranele celulare și alte structuri. Carbohidrații macromoleculari funcționează ca rezerve alimentare. Funcția principală a carbohidraților este totuși să alimenteze activitățile celulelor cu o sursă gata de energie.

Carbohidrații sunt formați din atomi de carbon, hidrogen și oxigen. Raportul dintre hidrogen și atomii de oxigen este întotdeauna de 2:1 în carbohidrații simpli. Acest raport poate fi văzut în formulele pentru carbohidrați riboză ($C_5H_{10}O_5$), glucoză ($C_6H_{12}O_6$) și zaharoză (CJ2H22OH). Deși există excepții, formula generală pentru carbohidrați este (CH_2O)„, unde n indică faptul că există trei sau mai multe unități de CH_2O Carbohidrații pot fi clasificați în trei grupe majore în funcție de dimensiune: monozaharide, dizaharide și polizaharide.

Monozaharide

Zaharurile simple se numesc monozaharide (zahar = zahar); fiecare moleculă conține de la trei până la șapte atomi de carbon. Numărul de atomi de carbon din molecula unui zahăr simplu este indicat prin prefixul din numele său. De exemplu, zaharurile simple cu trei atomi de carbon se numesc trioze. Există, de asemenea, tetroze (zaharuri cu patru atomi de carbon), pentoze (zaharuri cu cinci atomi de carbon), hexoze (zaharuri cu șase atomi de

carbon) și heptoze (zaharuri cu șapte atomi de carbon). Pentozele și hexozele sunt extrem de importante pentru organismele vii. Deoxiriboza este o pentoză găsită în ADN. Glucoza, o hexoză foarte comună, este principala moleculă de alimentare cu energie a celulelor vii.

dizaharide

Dizaharidele (di = doi) se formează atunci când două monozaharide se leagă într-o reacție de sinteză de deshidratare? De exemplu, moleculele a două monozaharide, glucoză și fructoză, se combină pentru a forma o moleculă de dizaharid zaharoză (zahăr de masă) și o moleculă de apă (vezi Figura 2.8a). În mod similar, sinteza de deshidratare a monozaharidelor glucoză și galactoză formează dizaharid lactoza (zahărul din lapte).

Poate părea ciudat că glucoza și fructoza au aceeași formulă chimică (vezi Figura 2.8), chiar dacă sunt monozaharide diferite, pozițiile oxigenului și carbonilor diferă în cele două molecule diferite și, în consecință, moleculele au proprietăți fizice și chimice diferite. Două molecule cu aceeași formulă chimică, dar cu structuri și proprietăți diferite se numesc izomeri (iso = același).

Dizaharidele pot fi descompuse în molecule mai mici, mai simple atunci când se adaugă apă. Această reacție chimică, inversa sintezei de deshidratare, se numește hidroliză (hidro = apă; liză = to -oosen) (Figura 2.8b). O moleculă de zaharoză, de exemplu, poate fi hidrolizată (digerată) în componentele sale de glucoză și fructoză prin reacția cu H+ și OUT din apă.

După cum veți vedea în Capitolul 4, pereții celulari ai celulelor bacteriene sunt alcătuiți din dizaharide și proteine (denumite împreună peptidoglican).

Polizaharide

Carbohidrații din al treilea grup major, polizaharidele, constau din zeci sau sute de monozaharide unite prin sinteza deshidratării. Polizaharidele au adesea lanțuri laterale ramificate în structura principală și sunt clasificate ca macromolecule. Ca și dizaharidele, polizaharidele pot fi împărțite în zaharurile lor constitutive prin hidroliză. Spre deosebire de monozaharide și dizaharide, totuși, ele nu au de obicei dulceața caracteristică a zaharurilor precum fructoza și zaharoza și, de obicei, nu sunt solubile în apă.

Carbohidrații formați din 2 până la aproximativ 20 de monozaharide se numesc oligozaharide (oligo = puține). Dizaharidele sunt cele mai comune oligozaharide.

Un polizaharid important este glicogenul, care este compus din subunități de glucoză și este sintetizat ca material de depozitare de către animale și unele bacterii. Celuloza, un alt polimer important al glucozei, este componenta principală a pereților celulari ai plantelor și a majorității algelor. Deși celuloza este cel mai abundent carbohidrat de pe Pământ, ea poate fi digerată doar de câteva organisme care au enzima adecvată. Dextranul polizaharidic, care este produs ca slime zaharat de anumite bacterii, este folosit ca substitut al plasma

sanguina. Chitina este o polizaharidă care face parte din peretele celular al majorității ciupercilor și din exoscheletele homarilor, crabilor și insectelor. Amidonul este un polimer al glucozei produs de plante și folosit ca hrană de oameni.

Multe animale, inclusiv oamenii, produc enzime numite amilaze care pot rupe legăturile dintre moleculele de glucoză din glicogen. Cu toate acestea, această enzimă nu poate rupe legăturile din celuloză. Bacteriile și ciupercile care produc enzime numite celulaze pot digera celuloza. Celulazele din ciuperca I rirhoderma (trik'o-der-ma) sunt folosite pentru o varietate de scopuri industriale. Una dintre cele mai neobișnuite utilizări este producerea denimului spălat cu piatră. Deoarece spălarea țesăturii cu pietre ar deteriora mașinile de spălat, celulaza este folosită pentru a digera și, prin urmare, a înmuia bumbacul. (Vezi caseta din Capitolul 1, pagina 3.)

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Dați un exemplu >. o monozaharidă, o dizaharidă și o polizaharidă. 2 8

Lipidele

Dacă lipidele aveau să dispară brusc de pe Pământ, toate celulele vii s-ar prăbuși într-un bazin de lichid, deoarece lipidele sunt esențiale pentru structura și funcționarea membranelor care separă celulele vii de mediul lor. Lipidele (buza = grăsime) sunt al doilea grup major de compuși organici fourid din materia vie. Ca și carbohidrații, ei sunt alcătuiți din atomi de carbon, hidrogen și oxigen, dar • lipidelor le lipsește raportul de 2:1 între atomii de hidrogen și oxigen. Chiar dacă lipidele sunt un grup foarte divers de compuși, ele au o caracteristică comună: sunt molecule nepolare, astfel încât, spre deosebire de apă, nu au un capăt pozitiv și unul negativ (pol), prin urmare,

Carboxil hidrocarbură

lanț de grup

IA \ r —

H _OHHHHHHHHHHHHHHH

I II IIIIIIIIIIIIII

. HC-OfH HO— CCCCCCCCCCCCCCCCH

IV y III 11,11111111

HHHHHHHHHHHHHHH

HC-OH ' '

(b) Acid gras (acid palmitic), C15H3iCOOH

HC-OH .

Figura 2.9 Formule structurale ale lipidelor simple.

(a) Glicerol, (b) Acid palmitic, un acid gras saturat.

(c) Combinația chimică a unei molecule de glicerol și trei molecule de acizi grași (palmitic, stearic și oleic în acest exemplu) formează o moleculă de grăsime (trigliceride) și trei molecule de apă într-o reacție de sinteză de deshidratare.

. Acidul oleic este un acid gras cis. Legătura dintre glicerol și fiecare acid gras se numește legătură esterică. Adăugarea a trei molecule de apă la o grăsime formează glicerol și trei molecule de acizi grași într-o reacție de hidroliză.

(a) Glicerol

Cum diferă acizii grași saturați și nesaturați?

Legătura esterică

H

eu

HCO-

OHHHHHHHHHHHHHHHH

II il IIIIIIIIIIII

CCCCCCCCCCCCCCCCH I Acid palmitic (C15H31COOH) + H2O III / co 111 ro t \

HHHHHHHHHHHHHHHH (saturat)

OHHHHHHHHHHHHHHHHHH ,

ll II I I ll IIIIII ll II l

HCOCC- C -c -ccc- CCCC--C -C- CCCC- C- H , acid stearic (C^H^COOH) + 1 1 I I II . III;

HHHFHHHHHHHHHHHHHH / (saturat)

H2O

HC-0

OHHHHHHHH,

II I I I I II. >

CCCCCCCC-^.,/ ,

I I I I I II

H H H H H HH

configurație cis

(c) Moleculă de grăsime (trigliceride)

Acid oleic ($C_{17}H_{33}COOH$) + H_2O (nesaturat)

majoritatea lipidelor sunt insolubile în apă, dar se dizolvă ușor în solvenți nepolari, cum ar fi eterul și cloroformul. Lipidele asigură structura membranelor și a unor pereți celulari și funcționează în stocarea energiei.

Lipide simple

Lipidele simple, numite grăsimi sau trigliceride, conțin un alcool numit glicerol și un grup de compuși cunoscuți sub numele de acizi grași. Moleculele de glicerol au trei atomi de carbon de care sunt atașate trei grupări hidroxil (— OH) (Figura 2.9a). Acizii grași constau din lanțuri lungi de hidrocarburi (compuse numai din atomi de carbon și hidrogen) care se termină într-o grupă carboxil (— COOH, acid organic) (Figura 2.9b). Cei mai comuni acizi grași conțin un număr par de atomi de carbon.

O moleculă de grăsime se formează atunci când o moleculă de glicerol se combină cu una până la trei molecule de acizi grași. Numărul de molecule de acizi grași determină dacă molecula de grăsime este o monogliceridă, digliceridă sau trigliceridă (Figura 2.9c). În reacție se formează una până la trei molecule de apă (deshidratare), în funcție de numărul de molecule de acizi grași care reacţionează. Legătura chimică formată în cazul în care molecula de apă este îndepărtată se numește legătură esterică. În reacția inversă, hidroliză, o moleculă de grăsime este descompusă în moleculele sale componente de acid gras și glicerol.

Deoarece acizii grași care formează lipidele au structuri diferite, există o mare varietate de lipide. De exemplu, trei molecule de acid gras A s-ar putea combina cu o moleculă de glicerol. Sau câte o moleculă de acizi grași A, B și G s-ar putea uni cu o moleculă de glicerol (vezi Figura 2.9c).

Funcția principală a lipidelor este de a forma membrane plasmatice care înglobează celulele. O membrană plasmatică susține celula și permite nutrienților și deșeurilor să intre și să iasă; prin urmare, lipidele trebuie să mențină aceeași vâscozitate, indiferent de temperatura din jur. Membrana trebuie să fie cam la fel de vâscoasă ca uleiul de măsline, fără a deveni prea fluidă când este încălzită sau prea groasă când este răcită. După cum știe oricine care a gătit vreodată o masă, grăsimile animale (cum ar fi untul) sunt de obicei solide la temperatura camerei, în timp ce uleiurile vegetale sunt de obicei lichide la temperatura camerei. Diferența dintre punctele lor de topire respective se datorează gradelor de saturație a lanțurilor de acizi grași. Se spune că un acid gras este saturat atunci când nu are legături duble, caz în care scheletul de carbon conține numărul maxim de atomi de hidrogen (vezi Figura 2.9c și Figura 2.10a). Lanțurile saturate devin solide mai ușor, deoarece sunt relativ drepte și sunt astfel capabile să se împacheteze mai strâns decât lanțurile nesaturate. Legăturile duble ale lanțurilor nesaturate creează îndoituri în lanţ, care țin lanțurile departe de

unul pe altul (Figura 2.10b). Rețineți în figura 2.9c că atomii de H de pe ambele părți ale dublei legături din acidul oleic sunt de aceeași parte a acidului gras nesaturat. Un astfel de acid gras nesaturat este cailei, un acid gras cis. Dacă, în schimb, atomii de H se află pe părțile opuse ale dublei legături, acidul nesaturat se numește acid gras trans.

Lipide complexe

Lipidele complexe conțin elemente precum fosfor, azot și sulf, pe lângă carbonul, hidrogenul și pachetul de oxigen din lipidele simple. Lipidele complexe numite fosfolipide sunt formate din glicerol, doi acizi grași și, în locul unui al treilea acid gras, o grupare fosfat legată de una dintre mai multe grupe organice (vezi Figura 2.10a). Fosfolipidele sunt lipidele care construiesc membrane; sunt esențiale pentru supraviețuirea unei celule. Fosfolipidele au regiuni polare, precum și nepolare (Figura 2.10a și b; vezi și figura 4.14, pagina 89). Când sunt introduse în apă, moleculele de fosfolipide se răsucesc astfel încât toate porțiunile polare (hidrofile) să se orienteze către moleculele polare de apă, cu care formează apoi legături de hidrogen. (Reamintim că hidrofil înseamnă iubitor de apă.) Acesta formează structura de bază a membranei plasmatice (Figura 2.10c). Porțiunile polare constau dintr-o grupă fosfat și glicerol. Spre deosebire de regiunile polare, toate părțile nepolare (hidrofobe) ale fosfolipidei intră în contact numai cu porțiunile nepolare ale moleculelor învecinate. (Hidrofob înseamnă frică de apă.) Porțiunile nepolare constau din acizi grași. Acest comportament caracteristic face ca fosfolipidele să fie deosebit de potrivite pentru rolul lor ca o componentă majoră a membranelor care înglobează celulele. Fosfolipidele permit membranei să acționeze ca o barieră care separă conținutul celulei de mediul pe bază de apă în care trăiește.

Unele lipide complexe sunt utile în identificarea anumitor bacterii. De exemplu, peretele celular al Mycobacterium tuberculosis (mi-kd-bak-ti re-um tu-ber-ku-ld'sis), bacteria care provoacă tuberculoza, se distinge prin conținutul său bogat în lipide. Peretele celular conține lipide complexe, cum ar fi ceara și glicolipidele (lipide cu carbohidrați atașați) care conferă bacteriei caracteristici distinctive de colorare. Pereții celulari bogati în astfel de lipide complexe sunt caracteristici tuturor membrilor genului Mycobacterium.

Steroizi

Steroizii sunt structural foarte diferiți de lipide. Figura 2.11 prezintă structura colesterolului steroid, cu cele patru inele de carbon interconectate care sunt caracteristice steroizilor. Când o grupă — OH este atașată la unul dintre inele, steroidul se numește sterol (un alcool). Sterolii sunt constituenți importanți ai membranelor plasmatice ale celulelor animale și ale unui grup de bacterii (micoplasme) și se găsesc și în ciuperci și plante. Sterolii separă lanțurile de acizi grași și astfel împiedică împachetarea care ar întări membrana plasmatică la temperaturi scăzute (vezi Figura 2.10c).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum diferă lipidele simple de lipidele complexe? 2-9

Proteinele

Proteinele sunt molecule organice care conțin carbon, hidrogen, oxigen și azot. Unele conțin și sulf. Dacă ar fi să separați și să cântăriți toate grupurile de compuși organici dintr-o celulă vie, proteinele ar înclina balanța. Sute de proteine diferite pot fi găsite în orice celulă și împreună ele alcătuiesc 50% sau mai mult din greutatea uscată a unei celule.

Proteinele sunt ingrediente esențiale în toate aspectele structurii și funcției celulare. Enzimele sunt proteinele care accelerează reacțiile biochimice. Dar proteinele au și alte funcții. Proteinele transportoare ajută la transportul anumitor substanțe chimice în și din celule. Alte proteine, cum ar fi bacteriocinele produse de multe bacterii, ucid alte bacterii. Anumite toxine, numite exotoxine, produse de unele microorganisme cauzatoare de boli sunt, de asemenea, proteine. Unele proteine joacă un rol în contracția celulelor musculare animale și în mișcarea celulelor microbiene și a altor tipuri de celule. Alte proteine sunt părți integrante ale structurilor celulare, cum ar fi pereții, membranele și componentele citoplasmatice. Alții, cum ar fi hormonii anumitor organisme, au funcții de reglare. După cum vom vedea în capitolul 17, proteinele numite anticorpi joacă un rol în sistemul imunitar al vertebratelor.

Aminoacizi

Așa cum monozaharidele sunt blocurile de construcție ale moleculelor de carbohidrați mai mari și la fel cum acizii grași și glicerolul sunt blocurile de construcție ale grăsimilor, aminoacizii sunt blocurile de construcție ale proteinelor. Aminoacizii conțin cel puțin o grupare carboxil (— COOH) și o grupare amino (—NH2) atașate la același atom de carbon, numită carbon alfa (scris Ca) (Figura 2.12a). Astfel de aminoacizi se numesc alfa-aminoacizi. De asemenea, atașată de carbon alfa este o grupare laterală (grupa R), care este caracteristica distinctivă a aminoacidului. Gruparea laterală poate fi un atom de hidrogen, un lanț de atomi neramificat sau ramificat sau o structură ciclică (tot carbonul) sau heterociclică (când un atom altul decât carbonul este inclus în inel). Figura 2.12b prezintă formula structurală a tirozinei, un aminoacid care are o grupare laterală ciclică. Gruparea laterală poate conține grupe funcționale, cum ar fi gruparea sulfhidril (-SH), gruparea hidroxil (-OH) sau grupări carboxil sau amino suplimentare. Aceste grupări laterale și grupările carboxil și alfa-amino afectează structura totală a unei proteine, descrisă mai târziu. Structurile și abrevierile standard ale celor 20 de aminoacizi găsiți în proteine sunt prezentate în Tabelul 2.5.

Majoritatea aminoacizilor există în oricare dintre cele două configurații numite stereoizomeri, desemnați prin d și l. Aceste configurații sunt imagini în oglindă, corespunzătoare formelor tridimensionale „dreaptace” (d) și „stângăci” (l) (Figura 2.13). Aminoacizii găsiți în proteine sunt întotdeauna izomerii L (cu excepția glicinei, cel mai simplu aminoacid, care nu are stereoizomeri). Cu toate acestea, D-aminoacizii apar ocazional în natură - de exemplu, în anumiți pereți celulari bacterieni și antibiotice. (De asemenea, multe alte tipuri de molecule organice pot exista în forme d și l. Un exemplu este glucoza de zahăr, care apare în natură ca D-glucoză.)

Deși doar 20 de aminoacizi diferiți apar în mod natural în proteine, o singură moleculă de proteină poate conține de la 50 la sute de molecule de aminoacizi, care pot fi aranjate într-un număr aproape infinit de moduri pentru a face proteine de diferite lungimi, compoziții și structuri. Numărul de proteine este practic nesfârșit și fiecare celulă vie produce multe proteine diferite.

TABELUL 2.5 Cei 20 de aminoacizi găsiți în proteine*

Glicina (Gly)

H

p

h2n—c—c"

\)H

H

Alanina (Ala)

H

P

H2N — C — C’

P oh

Valine (Vai)

H

p

h2n—c—c'

■ L \>H

CH

ch3 ch3

Leucină (Leu)

H

p

h2n—c—o'

.1. ?OH

GH2'_

izoleucina (minciuna)

H

p

h2n—c—c;

h3c-ch oh

Atom de hidrogen

Serina (Ser)

H

O

h2n—c—c

CH, X°H

OH

Grupa hidroxil (-OH).

Acid aspartic (Asp)

H

O

H2N —C —C"
iU 'oh

Carboxil suplimentară
(-COOH), acidă

Fenilalanina (Phe)

H

p

h2n—c—c'

OH. 0H

Ciclic

CH

: CH_3 CH_3

CH_2;

eu

CH3:

p

h2n—c—c

-h, ViH

CH

Ciclic

p

h2n—c—c'

Ph

CH_2

HN^+

NH

Heterociclic

I -Z

h2n—c—c;

OH

CH.

Heterociclic

p

HN —C — C'z
H2CjJ)H2' oh
ch2

Heterociclic

ln paren,heseț toove)',moștenitor st,uc,urai fo,rnuias fcenKr)'și charac,er,s,i<: r »»

£9 Care izomer se găsește întotdeauna în proteine?

Legături peptidice

Aminoacizii se leagă între atomul de carbon al grupării carboxil (— COOH) a unui aminoacid și atomul de azot al grupării amino (— NH2) a altuia (Figura 2.14). Legăturile dintre aminoacizi se numesc legături peptidice. Pentru fiecare legătură peptidică formată între doi aminoacizi, se eliberează o moleculă de apă; astfel, prin sinteza deshidratării se formează legăturile peptidice. Compusul rezultat din figura 2.14 se numește dipeptidă deoarece este format din doi aminoacizi uniți printr-o legătură peptidică. Adăugarea unui alt aminoacid la o dipeptidă ar forma o tripeptidă. Adăugările ulterioare de aminoacizi ar produce o moleculă lungă, asemănătoare lanțului, numită peptidă (4-9 aminoacizi) sau polipeptidă (10-2000 sau mai mulți aminoacizi).

Nivelurile structurii proteinelor

Proteinele variază enorm în structură. Diferite proteine au arhitecturi diferite și forme tridimensionale diferite. Această variație a structurii este direct legată de diversele lor funcții.

Caz clinic

În timp ce Jonathan se află la terapie intensivă, soția lui, DeeAnn, și fiica adultă vorbesc cu medicul său și cu un investigator de la Centers for Disease Control and Prevention țCDC) pentru a găsi sursa infecției cu B. anthracis a lui Jonathan. Investigațiile de mediu descoperă B. anthracis la domiciliul lui Jonathan, în duba lui și la locul de muncă, dar nici soția, nici copiii nu prezintă semne de infecție. Colegii lui de trupă sunt și ei testați; toate sunt negative pentru B. anthracis. Investigatorul CDC explică familiei lui Jonathan că B. anthracis formează endospori care pot supraviețui în sol până la 60 de ani. Este rar la om; cu toate acestea, animalele care pasc și oamenii care își manipulează pieile sau alte produse secundare se pot infecta. Celulele B. anthracis au capsule care sunt compuse din acid poli-D-glutamic.

De ce sunt capsulele rezistente la digestia de către citele fago? (Fagocitele sunt celule albe din sânge care înghit și distrug bacteriile.)

43

Când o celulă produce o proteină, lanțul polipeptidic se pliază spontan pentru a lua o anumită formă. Un motiv pentru plierea polipeptidei este că unele părți ale unei proteine sunt atrase de apă, iar alte părți sunt respinse de aceasta. Practic, în toate cazurile, funcția unei proteine depinde de capacitatea sa de a recunoaște și de a se lega de o altă moleculă. De exemplu, o enzimă se leagă în mod specific cu substratul său. O proteină hormonală se leagă de un receptor de pe o celulă a cărei funcție o va modifica. Un anticorp se leagă de un antigen (substanță străină) care a invadat organismul. Forma unică a fiecărei proteine îi permite să interacționeze cu alte molecule specifice pentru a îndeplini funcții specifice.

Proteinele sunt descrise în termeni de patru niveluri de organizare: primar, secundar, terțiar și cuaternar. Structura primară este secvența unică în care aminoacizii sunt legați împreună pentru a forma un lanț polipeptidic (Figura 2.15a). Această secvență este determinată genetic. Modificările în secvență pot avea efecte metabolice profunde. De exemplu, un singur aminoacid incorect dintr-o proteină din sânge poate produce molecula de hemoglobină deformată, caracteristică drepaniei. Dar proteinele nu există atât de lungi și drepte. Fiecare lanț polipeptidic se pliază și se înfășoară în moduri specifice într-o structură relativ compactă, cu o formă tridimensională caracteristică.

Structura secundară a unei proteine este răsucirea sau plierea localizată, repetitivă a lanțului polipeptidic. Acest aspect al formei unei proteine rezultă din legăturile de hidrogen care unesc atomii legăturilor peptidice în diferite locații de-a lungul lanțului polipeptidic.

Cele două tipuri de structuri proteice secundare sunt spirale în sensul acelor de ceasornic numite elice (singular: helix) și foi pliate, care se formează din porțiuni aproximativ paralele ale lanțului (Figura 2.15b). Ambele structuri sunt ținute împreună prin legături de hidrogen între atomii de oxigen sau azot care fac parte din coloana vertebrală a polipeptidei.

Structura terțiară se referă la structura tridimensională generală a unui lanț polipeptidic (Figura 2.15c). Plierea nu este repetitivă sau previzibilă, ca în structura secundară. În timp ce structura secundară implică legături de hidrogen între atomii grupărilor amino și carboxil implicate în legăturile peptidice, structura terțiară implică mai multe interacțiuni între diferitele grupări laterale de aminoacizi din lanțul polipeptidic. De exemplu, aminoacizii cu grupări laterale nepolare (hidrofobe) interacționează de obicei la miezul proteinei, în afara contactului cu apa. Această interacțiune hidrofobă contribuie la structura terțiară. Legături de hidrogen între grupurile laterale și legături ionice între

Caz clinic

Fagocitele gazdei nu pot digera cu ușurință formele D de aminoacizi, cum ar fi acidul D-glutamic găsit în capsulele de B. anthracis. Prin urmare, se poate dezvolta infecția. Menționarea de către investigatorul CDC a pieilor de animale îi dă lui DeeAnn o idee. Jonathan cântă la tobe vest-africane numite djembe; pieile de tobe sunt făcute din piei uscate de capră importate din Africa de Vest. Deși cele mai multe dintre aceste piei sunt importate legal, unele se strecoară printre crăpături. Este posibil ca pieile de pe tobele lui Jonathan să fi fost importate ilegal și, prin urmare, să nu fi fost inspectate de Departamentul Agriculturii al SUA. Pentru a crea tobe djembe, pieile sunt înmuiate în apă, întinse peste corpul tobei și apoi răzuite

și șlefuit. Razuirea si slefuirea genereaza o cantitate mare de praf aerosol pe masura ce pieile se usuca. Uneori, acest praf conține endospori de B. anthracis, care conțin acid dipicolinic.

Care este grupa funcțională din acidul dipicolinic? Vezi figura de mai sus.

44grupurile laterale încărcate opus, contribuie, de asemenea, la structura terțiară. Proteinele care conțin aminoacidul cisteină formează legături covalente puternice numite punți disulfurice. Aceste punți se formează atunci când două molecule de cisteină sunt apropiate împreună prin plierea proteinei. Moleculele de cisteină conțin grupări sulfhidril (—SH), iar sulful unei molecule de cisteină se leagă de sulful de pe alta, formând (prin îndepărtarea atomilor de hidrogen) o punte disulfurică (S — S) care ține împreună părți ale proteinei.

Unele proteine au o structură cuaternară, care constă dintr-o agregare a două sau mai multe lanțuri polipeptidice individuale (subunități) care funcționează ca o singură unitate funcțională. Figura 2.15d prezintă o proteină ipotetică constând din două lanțuri polipeptidice. Mai frecvent, proteinele au două sau mai multe tipuri de subunități polipeptidice. Legăturile care țin împreună o structură cuaternară sunt practic aceleași cu cele care mențin structura terțiară. Forma generală a unei proteine poate fi globulară (compact și aproximativ sferică) sau fibroasă (sub formă de fir).

Dacă o proteină întâlnește un mediu ostil în ceea ce privește temperatura, pH-ul sau concentrațiile de sare, se poate desface și își poate pierde forma caracteristică. Acest proces se numește denaturare (vezi Figura 5.6, pagina 117). Ca urmare a denaturarii, proteina nu

mai este functionala. Acest proces va fi discutat mai detaliat în Capitolul 5 cu privire la denaturarea enzimelor.

Proteinele despre care am discutat sunt proteine simple, care conțin doar aminoacizi. Proteinele conjugate sunt combinații de aminoacizi cu alte componente organice sau anorganice. Proteinele conjugate sunt denumite după componenta lor non-aminoacizi. Astfel, glicoproteinele conțin zaharuri, nucleoproteinele conțin acizi nucleici, metaloproteinele conțin atomi de metal, lipoproteinele conțin lipide, iar fosfoproteinele conțin grupări fosfat. Fosfoproteinele sunt regulatori importanți ai activității celulelor eucariote. Sinteza bacteriană a fosfoproteinelor poate fi importantă pentru supraviețuirea bacteriilor, cum ar fi Legionella pneumophila, care cresc în interiorul celulelor gazdă.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce două grupe funcționale sunt în toți aminoacizii? 2-10

Acizi nucleici

În 1944, trei microbiologi americani — Oswald Avery, Colin MacLeod și Maclyn McCarty — au descoperit că o substanță numită acid dezoxiribonucleic (ADN) este substanța din care sunt formate genele. Nouă ani mai târziu, James Watson și Francis Crick,

Legături peptidice

(a) Structura primară: catena polipeptidică

Hx V r.

NCCN-'

i ii HRO

HR

CCCNCNCCNCC-

HO RO

¥R

NC-Cx

H XOH,

Legătura de hidrogen

(b) Structura secundară: helix și foi plisate

(cu trei catene polipeptidice)

Helix

Foaie plisată

Interacțiune hidrofobă

(c) Structura terțiară: spirală pliată și foaie plisată

mm

Punte de disulfură

Legătura de hidrogen

O

C-OH

•SS-CH.

Punte disulfurică
(între
moleculele de cisteină)

Catena polipeptidica

Legătura ionică

(d) Structura cuaternară: două sau mai multe polipeptide în stările lor pliate

Figura 2.15 Structura proteinei, (a) Structura primară, secvența de aminoacizi.

(b) Structuri secundare: helix și folie plisată, (c) Structura terțiară, plierea tridimensională generală a unui lanț polipeptidic, (d) Structura cuaternară, relația dintre mai multe lanțuri polipeptidice care alcătuiesc o proteină. Arată aici este cuaternarul. structura unei proteine ipotetice compusă din două lanțuri polipeptidice.

îndeplinesc funcții specifice?

el Structura ADN-ului

; Adenina și timina (precum și Citozina și Guanina, care nu sunt prezentate aici) sunt baze azotate c • nucleobaze.

Fosfat

Zahăr

Adenina (A)

timină (T)

Zahăr

Fosfat

CH_3

O

N — H — O

O = P

O

N

o-

H

Nucleotidă de adenină

Legături de hidrogen

Coloana vertebrală zahăr-fosfat

Cheie

Legătura de hidrogen

ADN dublu helix

ADN-ul este o moleculă dublu catenară care stochează informații genetice în toate celulele.

O nucleotidă constă dintr-o bază care conține azot, un zahăr pentoză și o grupare fosfat.

Împerecherea mentară Ccmp a bazelor care conțin azot are loc între Adenină și Timină; Guanina si Citozina.

OH

3'

5'

O-CH2

H

O

3'

OH H

N H—.N

H2C—O

5

P = O

„nucleotidă himină

Nucleotidele ADN individuale sunt compuse dintr-o moleculă de zahăr dezoxiriboză covalent

: legat la o grupare fosfat la carbonul 5’ și la o bază care conține azot la carbonul 3’. Cele două nucleotide prezentate aici sunt ținute împreună prin legături de hidrogen.

Atomii de carbon din zaharuri sunt identificați prin adăugarea unui marker,' (de exemplu, 5', pronunțat „5-prim”). Acest lucru îi diferențiază de atomii de carbon din nucleobazele, cum ar fi timina.

Zaharuri

I Fosfați

Coloana vertebrală zahăr-fosfat

■ a unei șuvițe este cu susul în jos,

' sau antiparalel, în raport cu coloana vertebrală a celeilalte fire.

Adenina A < r Timina Guanina | G ((C ~| Citozină

Forma dublu elicoidal, asemănătoare unei scări a ADN-ului este alcătuită din multe perechi de baze de nucleotide care formează treptele și combinația repetată de fosfat de zahăr, formând coloana vertebrală.

CONCEPTE-CHEIE

0

Grupările alternante de zahăr și fosfat formează coloana vertebrală a dublei spirale (scara răsucită); treptele dublei helix sunt formate din bazele azotate.

familiaritatea cu structura și funcția ADN-ului este esențială pentru înțelegerea geneticii, tehnicilor ADN recombinant și apariția rezistenței la antibiotice și a noilor boli.

Lucrând cu modele moleculare și informații cu raze X furnizate de Maurice Wilkins și Rosalind Franklin, a identificat structura fizică a ADN-ului. În plus, Crick a sugerat un mecanism pentru replicarea ADN-ului și cum funcționează acesta ca material ereditar. ADN-ul și o altă substanță numită acid ribonucleic (ARN) sunt denumite împreună acizi nucleici deoarece au fost descoperite pentru prima dată în nucleele celulelor. La fel cum aminoacizii

sunt unitățile structurale ale proteinelor, nucleotidele sunt unitățile structurale ale acizilor nucleici.

Fiecare nucleotidă are trei părți: o bază care conține azot, o pentoză (cu cinci atomi de carbon) zahăr (fie deoxiriboză, fie riboză) și o grupare fosfat (acid fosforic). Bazele care conțin azot sunt compuși ciclici formați din atomi de carbon, hidrogen, oxigen și azot. Bazele sunt numite adenină (A), timină (T), citozină (C), guanină (G) și uracil (U). A și G sunt structuri cu inel dublu numite purine, în timp ce T, C și U sunt structuri cu un singur inel numite pirimidine.

Nucleotidele sunt denumite în funcție de baza lor care conține azot. Astfel, o nucleotidă care conține timină este o nucleotidă de timină, una care conține adenină este o nucleotidă de adenină și așa mai departe. „Termenul nucleozid se referă la combinația de purină sau pirimidină plus o pentoză de zahăr; nu contine o grupare fosfat.

ADN

Conform modelului propus de Watson și Crick, o moleculă de ADN constă din două fire lungi înfășurate una în jurul celeilalte pentru a forma o dublă helix (Figura 2.16). Helixul dublu arată ca o scară răsucită, iar fiecare fir este compusă din multe nucleotide.

Fiecare catenă de ADN care compun dublu helix are o „coloană vertebrală” constând din grupări alternante de zahăr dezoxiriboză și fosfat. Dezoxiriboza unei nucleotide este unită cu gruparea fosfat a următoarei. (Consultați Figura 8.3, pagina 211, pentru a vedea cum sunt legate nucleotidele.) Bazele care conțin azot formează treptele scării. Rețineți că purina A este întotdeauna asociată cu pirimidină T și că purina G este întotdeauna asociată cu pirimidină C. Bazele sunt ținute împreună prin legături de hidrogen; A și T sunt ținute de două legături de hidrogen, iar G și C de trei. ADN-ul nu conține uracil (U).

„Ordinea în care perechile de baze de azot apar de-a lungul coloanei vertebrale este extrem de specifică și, de fapt, conține instrucțiunile genetice pentru organism. Nucleotidele formează gene, iar o singură moleculă de ADN poate conține mii de gene. Genele determină toate trăsăturile ereditare și controlează toate activitățile care au loc în interiorul celulelor.

O consecință foarte importantă a împerecherii bazelor care conțin azot este că, dacă este cunoscută secvența bazelor unei catene, atunci este cunoscută și secvența celeilalte catene. De exemplu, dacă o catenă are secvența ... ATGC ..., atunci cealaltă catenă are secvența ... TACG .... Deoarece secvența de baze a unei catene este determinată de secvența de baze a celeilalte, se spune că bazele sunt complementare. Transferul efectiv de informații devine posibil datorită structurii unice a ADN-ului și va fi discutat în continuare în Capitolul 8.

Figura 2.17 O nucleotidă uracil a ARN.

ARN

ARN, al doilea tip principal de acid nucleic, diferă de ADN în mai multe privințe. În timp ce ADN-ul este dublu catenar, ARN-ul este de obicei monocatenar. Zahărul cu cinci atomi de carbon din nucleotida ARN este riboza, care are un atom de oxigen mai mult decât deoxiriboza. De asemenea, una dintre bazele ARN este uracil (U) în loc de timină (Figura 2.17). Celelalte trei baze (A, G, C) sunt aceleași cu ADN-ul. „Au fost identificate trei tipuri majore de ARN în celule. Ele sunt ARN mesager (ARNm), ARN ribozomal (ARNr) și ARN de transfer (ARNt). După cum vom vedea în capitolul 8, fiecare tip de ARN are un rol specific în sinteza proteinelor.

O comparație între ADN și ARN este prezentată în Tabelul 2.6.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum diferă ADN-ul și ARN-ul? 2-11

Trifosfat de adenozină (ATP)

Adenozin trifosfat (ATP) este principala moleculă purtătoare de energie a tuturor celulelor și este indispensabilă vieții celulei. Stochează energia chimică eliberată de unele reacții chimice și furnizează energia pentru reacțiile care necesită energie. ATP constă dintr-o unitate de adenozină, compusă din adenină și riboză, cu trei grupe fosfat (Q) atașate (Figura 2.18). Cu alte cuvinte, este o nucleotidă de adenină (numită și adenozin monofosfat sau AMP) cu două grupe de fosfat în plus. ATP se numește moleculă cu energie înaltă deoarece eliberează o cantitate mare de energie utilizabilă atunci când a treia grupă fosfat este hidrolizată pentru a deveni adenozin difosfat (ADP). Această reacție poate fi reprezentată astfel:

Adenozină — (fg)— p—(g) + H2O s Adenozină Apă

trifosfat

Adenozina — —J). + + Energie

Adenozină anorganică

fosfat difosfat

Figura 2.18 Structura ATP. Legăturile de fosfat de înaltă energie sunt indicate prin linii ondulate. Când ATP se descompune în ADP și fosfat anorganic, o cantitate mare de energie chimică este eliberată pentru a fi utilizată în alte reacții chimice.

Cum este ATP similar cu o nucleotidă din ARN? În ADN?

Aportul de ATP al unei celule la un moment dat este limitat. Ori de câte ori aprovizionarea necesită reumplere, reacția merge în sens invers; adăugarea unei grupări fosfat la ADP și aportul de energie produce mai mult ATP. Energia necesară pentru a atașa gruparea fosfat terminală la ADP este

Caz clinic rezolvat

Grupa funcțională din acidul dipicolinic este carboxi.. Infecția cu B. anthracis este contractată prin contactul, ingestia sau inhalarea endosporilor. În cazul lui Jonathan, procesul de întindere, răzuire și șlefuire a pieilor de capră crease praf care s-a depus pe I te u ■ uni s.cin . orice crăpături din jur. Endosporii de B. anthracis au devenit aeropurtați, sau aerosolizați, ori de câte ori Jonathan bătea tobă. Își revine complet, ana de acum înainte se asigură că toate părțile oricărei tobe pe care le cumpără au fost importate legal.

48

furnizate de diferitele reacții de oxidare ale celulei, în special de oxidarea glucozei. ATP poate fi stocat în fiecare celulă, unde energia sa potențială nu este eliberată fără nevoie.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care poate furniza mai multă energie unei celule și de ce: ATP sau ADP? 2-12

TABELUL 2o6 Comparația dintre ADN și ARN

Coloana vertebrală

ADN

ARN

Șuvițe

Dublu catenar în celule și majoritatea virusurilor ADN pentru a forma un dublu helix; monocatenar în unele virusuri (parvovirusuri).

Monocatenar în celule și majoritatea virusurilor ARN dublu catenar în unele viruși (reovirusuri).

Compoziție Zahărul este dezoxiriboză.

Bazele care conțin azot sunt adenina (A), timina (7), citozina (C) și guanina (G).

Determină toate trăsăturile ereditare.

Bazele care conțin azot sunt adenina (A), timina (T), citozina (C) și uracilul (U).

Sinteza proteinelor.

MasteiiraMICROBIGLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Introducere (p.25)

Știința interacțiunii dintre atomi și molecule se numește chimie.

Activitățile metabolice ale microorganismelor implică reacții chimice complexe.

Microbii descompun nutrienții pentru a obține energie și pentru a face noi celule.

Structura atomilor (PP. 26-27)

Un atom este cea mai mică unitate o! un element chimic care prezintă proprietățile acelui element.

Atomii constau dintr-un nucleu, care conține protoni și neutroni, și electroni, care se mișcă în jurul nucleului.

Numărul atomic este numărul de protoni din nucleu; numărul total de protoni și neutroni este greutatea atomică.

Elemente chimice (pag. 26-27)

Atomii cu același număr de protoni și același comportament chimic sunt clasificați drept același element chimic.

Elementele chimice sunt desemnate prin abrevieri numite simboluri chimice.

Aproximativ 26 de elemente se găsesc în mod obișnuit în celulele vii.

Atomii care au același număr atomic (sunt din același element) dar greutăți atomice diferite se numesc izotopi.

Configurații electronice (pag. 27)

Într-un atom, electronii sunt aranjați în jurul nucleului în învelișuri de electroni.

Fiecare înveliș poate conține un număr maxim caracteristic de electroni.

Proprietățile chimice ale unui atom se datorează în mare măsură numărului de electroni din învelișul său cel mai exterior.

Cum formează atomii moleculele:

Legături chimice (pag. 27-31)

Moleculele sunt formate din doi sau mai mulți atomi; moleculele formate din cel puțin două tipuri diferite de atomi se numesc compuși.

Atomii formează molecule pentru a-și umple cele mai exterioare învelișuri de electroni.

Forțele atractive care leagă doi atomi împreună se numesc legături chimice.

Capacitatea de combinare a unui atom - numărul de legături chimice pe care atomul le poate forma cu alți atomi - este valența acestuia.

Legături ionice (p. 29-30)

Un atom sau un grup de atomi încărcat pozitiv sau negativ se numește ion.

O atracție chimică între ionii cu sarcină opusă se numește an

legătură ionică. '

Pentru a forma o legătură ionică, un ion este un donor de electroni, iar celălalt ion este un acceptor de electroni.

Legături covalente (pag. 30)

Într-o legătură covalentă, atomii împart perechi de electroni.

Legăturile covalente sunt mai puternice decât legăturile ionice și sunt mult mai frecvente în moleculele organice.

Legături de hidrogen (pag. 30-31)

O legătură de hidrogen există atunci când un atom de hidrogen legat covalent de un atom de oxigen sau de azot este atras de un alt atom de oxigen sau azot.

Legăturile de hidrogen formează legături slabe între diferite molecule sau între părți ale aceleiași molecule mari.

Greutate moleculară și alunițe (pag. 31)

Greutatea moleculară este suma greutăților atomice ale tuturor atomilor dintr-o moleculă.

Un mol al unui atom, ion sau moleculă este egal cu greutatea sa atomică sau moleculară exprimată în grame.

Reacții chimice (p. 31-33)

Reacțiile chimice sunt formarea sau ruperea legăturilor chimice dintre atomi.

O schimbare de energie are loc în timpul reacțiilor chimice.

Reacțiile endergonice necesită mai multă energie decât eliberează; reacţiile exergonice eliberează mai multă energie'.

Într-o reacție de sinteză, atomii, ionii sau moleculele sunt combinate pentru a forma o moleculă mai mare.

Într-o reacție de descompunere, o moleculă mai mare este descompusă în moleculele sale componente, ioni sau atomi.

Într-o reacție de schimb, două molecule sunt descompuse, iar subunitățile lor sunt folosite pentru a sintetiza două noi molecule.

Produșii reacțiilor reversibile pot reveni cu ușurință pentru a forma reactanții inițiali.

▯ Molecule biologice importante

(pag. 33-48)

Compuși anorganici (pag. 33-36)

Compușii anorganici sunt de obicei molecule mici, legate ionic.

Apa și mulți acizi, baze și săruri comune sunt exemple de compuși anorganici.

Apa (pag. 33-34)

Apa este cea mai abundentă substanță din celule.

Deoarece apa este o moleculă polară, este un solvent excelent.

Apa este un reactant în multe dintre reacțiile de descompunere ale digestiei.

Apa este un excelent tampon de temperatură.

Acizi, baze și săruri (pag. 34)

Un acid se disociază în H^+ și anioni.

O bază se disociază în OH” și cationi.

O sare se disociază în ioni negativi și pozitivi, niciunul dintre care nu este H%r OH".

Echilibrul acido-bazic: Conceptul de pH (pp. 34-36)

Termenul pH se referă la concentrația de H^+ într-o soluție.

O soluție cu pH 7 este neutră; o valoare a pH-ului sub 7 indică aciditate; pH-ul peste 7 indică alcalinitate.

pH-ul în interiorul unei celule și în mediul de cultură este stabilizat cu soluții tampon de pH.

Compuși organici (p. 36-48)

Compușii organici conțin întotdeauna carbon și hidrogen.

Atomii de carbon formează până la patru legături cu alți atomi.

Compușii organici sunt în mare parte sau în întregime legați covalent și mulți dintre ei sunt molecule mari.

Structură și chimie (pp. 36 -37)

Un lanț de atomi de carbon formează un schelet de carbon.

Grupurile funcționale de atomi sunt responsabile pentru majoritatea proprietăților moleculelor organice.

Litera R poate fi folosită pentru a desemna restul unei molecule organice.

Clasele de molecule întâlnite frecvent sunt R—OH (alcooli) și R—COOH (acizi organici).

Moleculele organice mici se pot combina în molecule foarte mari numite macromolecule.

De obicei, monomerii se leagă împreună prin sinteza de deshidratare sau reacții de condensare, care formează apă și un polimer.

Moleculele organice pot fi descompuse prin hidroliză, o reacție care implică divizarea moleculelor de apă.

Carbohidrați (pag. 37-38)

Carbohidrații sunt compuși formați din atomi de carbon, hidrogen și oxigen, cu hidrogen și oxigen într-un raport de 2:1.

Carbohidrații includ zaharuri și amidon.

Carbohidrații pot fi clasificați ca monozaharide, dizaharide și polizaharide.

Monozaharidele conțin de la trei până la șapte atomi de carbon.

Izomerii sunt două molecule cu aceeași formulă chimică, dar cu structuri și proprietăți diferite - de exemplu, glucoza ($C6H12O6$) și fructoza ($C6H12O6$).

Monozaharidele pot forma dizaharide și polizaharide prin sinteza deshidratării.

Lipide (pag. 38-41)

Lipidele sunt un grup divers de compuși care se disting prin insolubilitatea lor în apă.

Lipidele simple (grăsimi) constau dintr-o moleculă de glicerol și trei molecule de acizi grași.

O lipidă saturată nu are legături duble între atomii de carbon din acizii grași; o lipidă nesaturată are una sau mai multe duble legături. Lipidele saturate au puncte de topire mai mari decât lipidele nesaturate.

Fosfolipidele sunt lipide complexe formate din glicerol, doi acizi grași și o grupă fosfat.

Steroizii au structuri inelare de carbon; sterolii au o grupare hidroxil funcțională.

Proteine (pag. 41-44)

Aminoacizii sunt elementele de bază ale proteinelor.

Aminoacizii constau din carbon, hidrogen, oxigen, azot și uneori sulf.

Douăzeci de aminoacizi apar în mod natural în proteine.

Prin legarea aminoacizilor, legăturile peptidice (formate prin sinteza deshidratării) permit formarea de polipept.de cr.ain.,.

Proteinele au patru niveluri de structură: primar (secvența de aminoacizi), secundar (heliice sau pliuri), terțiar (structura generală tridimensională a unei polipeptide), am q. a tei a (două sau mai multe lanțuri polipeptidice).

Proteinele conjugate constau din aminoacizi combinați cu compuși anorganici sau alți compuși organici.

Acizi nucleici (p. 44-47) .

Acizii nucleici - ADN și ARN - sunt macromolecule formate din nucleotide care se repetă.

O nucleotidă este compusă dintr-o pentoză, o grupare fosfat și o bază care conține azot. O nucleozidă este compusă dintr-o pentoză și o bază care conține azot.

O nucleotidă ADN constă din deoxiriboză (o pentoză) și una dintre următoarele baze care conțin azot: timină sau citozină (pirimidine) sau adenină sau guanină (purine).

ADN-ul este format din două catene de nucleotide înfăşurate într-o dublă helix. Catenele sunt ținute împreună prin legături de hidrogen între nucleotidele purinice și pirimidinice: AT și GC.

Genele constau din secvențe de nucleotide.

O nucleotidă ARN constă din riboză (o pentoză) și una dintre următoarele baze care conțin azot: citozină, guanină, adenină sau uracil.

Trifosfat de adenozină (ATP) (pag. 47-48)

ATP stochează energie chimică pentru diferite activități celulare.

Când legătura cu grupul fosfat terminal al ATP este hidrolizată, se eliberează energie.

Energia din reacțiile de oxidare este folosită pentru a regenera ATP din ADP și fosfatul anorganic.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Ce este un element chimic?

Diagramați configurația electronică a unui atom de carbon.

Ce tip de legătură ține împreună următorii atomi?

Li+ și Cl- în LiCl

atomi de carbon și oxigen din metanol

atomi de oxigen din O2

un atom de hidrogen al unei nucleotide la un atom de azot sau oxigen al altei nucleotide în:

Guanina Citozina

Clasificați următoarele tipuri de reacții chimice.

glucoză + fructoză —* zaharoză + H2O

lactoză —* glucoză + galactoză

NH4C1 + H2O NH4OH + HC1

ATP ADP + Gi

Bacteriile folosesc enzima urază pentru a obține azot într-o formă pe care o pot folosi din uree în următoarea reacție:

CO(NH2)2 + H2O -> 2NH3 + CO2

Uree Amoniac Carbon

dioxid

Ce scop servește enzima în această reacție? Ce tip de reacție este aceasta?

■ 6. Clasificați tollowing-ul ca subunități fie ale unui carbohidrat, lipide, proteine sau acid nucleic.

CH3 — (CH2)7 CH = CH — (CH2)7 — COOH

Acid oleic

NH2

H—C—COOH

ch2

OH

Serina

c| C6Hi2O6

d. Nucleotidă de timină obținută prin unirea acidului aspartic la fenilalanina metilada, așa cum se arată mai jos.

Ce tipuri de molecule sunt acidul aspartic și fenilalanina?

În ce direcție este reacția de hidroliză (de la stânga la dreapta sau de la dreapta la stânga)?

În ce direcție este reacția de sinteză a deshidratării?

Încercuiește atomii implicați în formarea apei.

Identificați legătura peptidică.

Următoarea diagramă arată proteina bacteriorodopsină. Indicați regiunile structurii primare, secundare și terțiare. Are această oroteină structură auaternarv?

Desenați o lipidă simplă și arată cum ar putea avea ADN conținut într-un nucleu și ergosterol în membrana plasmatică?

Alegere Multiplă

Radioizotopii sunt folosiți frecvent pentru a marca moleculele dintr-o celulă. Soarta atomilor și moleculelor dintr-o celulă poate fi apoi urmărită. Acest proces stă la baza întrebărilor 1-3.

Să presupunem că bacteriile E. coli sunt crescute într-un mediu nutritiv care conține radioizotopul 16N. După o perioadă de incubație de 48 de ore, InN ar fi cel mai probabil găsit în E. coli.

carbohidrați.

lipide.

proteine.

apă.

nici una dintre cele de mai sus

Dacă bacteriile Pseudomonas sunt furnizate cu citozină marcată radioactiv, după o perioadă de incubare de 24 de ore, această citozină s-ar găsi cel mai probabil în celule.

carbohidrați.

ADN.

lipide.

apă.

proteine.

Dacă£. coli au fost crescute într-un mediu care conține izotopul radioactiv 32P, 32P ar fi găsit în toate moleculele următoare ale celulei, cu excepția

ATP.

carbohidrați.

ADN.

membrana plasmatica.

nici una dintre cele de mai sus

pH-ul optim al bacteriilor Thiobacillus (pH 3,) este

de ori mai mult acid decât sângele (pH 7).

4

10

100

1000

10,00C

Cea mai bună definiție a ATP este că este

o moleculă depozitată pentru uz alimentar.

o moleculă care furnizează energie pentru a lucra.

o moleculă stocată pentru o rezervă de energie.

o moleculă folosită ca sursă de fosfat.

Care dintre următoarele este o moleculă organică?

H_2O (apa)

O_2 (oxigen)

$C_{18}H_{29}SO_3$ (spumă de polistiren)

FeO (oxid de fier)

$F_2C=CF_2$ (Teflon)

Clasificați fiecare dintre moleculele din stânga ca acid, bază sau sare, se arată că produsele de disociere ale moleculelor vă ajută.

HNO_3-^H^+ + NO_3“ a

H_2SO_4 $2H^+$ + SO1" b< bază

1 , c sare

NaOH -> Na^+ + OH"

$MgSO_4$—*Mg^{2+} + SOI"

Gândire critică

Când suflați bule într-un pahar cu apă, au loc următoarele reacții:

$H_2O + CO_2$ H_2CO_3 -£• H' + HCO_3"

Ce tip de reacție este A?

Ce vă spune reacția B despre tipul de moleculă H_2CO_3?

Care sunt caracteristicile structurale comune ale moleculelor de ATP și ADN?

Ce se întâmplă cu cantitatea relativă de lipide nesaturate din membrana plasmatică atunci când bacteriile E. coli crescute la 25°C sunt apoi crescute la 37°C?

Girafele, termitele și koalale mănâncă numai materie vegetală. Deoarece animalele nu pot digera celuloza, cum credeți că aceste animale se hrănesc din frunzele și lemnul pe care le mănâncă?

Aplicații clinice

1. Bacteriile Ralstonia produc poli-0-hidroxibutirat (PHB), care este folosit pentru a face un plastic biodegradabil. PHB constă din mulți dintre monomerii prezentați mai jos. Ce tip de

moleculă este PHB? Care este cel mai probabil motivul pentru care o celulă ar stoca această moleculă?

OH H

II z°

HjC—C—C—Cf

Thiobacillus ferrooxidans a fost responsabil pentru distrugerea clădirilor din Vestul Mijlociu, provocând schimbări în pământ. Roca originală, care conținea var (CaCO3) și pirita (FeS2), s-a extins pe măsură ce metabolismul bacterian a determinat formarea de cristale de gips (CaSOj). Cum a adus T. ferrooxidans schimbarea de la var la gips?

Nou-născuții sunt testați pentru fenilcetonurie (PKU), o boală moștenită. Persoanele cu această boală le lipsește o enzimă care să transforme fenilalanina (phe) în tirozină; Acumularea rezultată de phe poate provoca retard mintal, leziuni ale creierului și convulsii. Testul Guthrie pentru PKU implică cultivarea Bacillus subtilis, care necesită phe pentru a crește. Bacteriile sunt crescute pe medii cu o picătură din sângele copilului.

Ce tip de substanță chimică este fenilalanina?

Ce înseamnă „fără creștere” în testul Guthrie?

De ce persoanele cu PKU trebuie să evite îndulcitorul aspartam?

Antibioticul amfotericina B provoacă scurgeri în celule prin combinarea cu sterolii din membrana plasmatică. V-ați aștepta să utilizați amfotericina B împotriva unei infecții bacteriene? O infecție fungică? Oferiți un motiv pentru care amfotericina B are efecte secundare severe la om.

Puteți simți mirosul de sulf când fierbeți ouăle. La ce aminoacizi vă așteptați în ou?

OH

Observarea microorganismelor prin microscop

M

icroorganismele sunt mult prea mici pentru a fi văzute cu ochiul liber; acestea trebuie observate cu microscopul. Cuvântul microscop este derivat din cuvântul latin micro (mic) și cuvântul grecesc skopos (a privi). Microbiologii moderni folosesc microscoape care produc, cu o mare claritate, măriri care variază de la zece la mii de ori mai mari decât cele ale lentilei

unice a lui van Leeuwenhoek (vezi Figura 1.2b la pagina 7). Acest capitol descrie modul în care funcționează diferitele tipuri de microscoape și de ce un tip poate fi folosit în detrimentul altuia. Helicobacter pylori, prezentat în fotografie, este o bacterie în formă de spirală care a fost văzută pentru prima dată în stomacurile de cadavre în 1886. Bacteria a fost în mare măsură ignorată până când capacitatea de rezolvare a microscoapelor a fost îmbunătățită. Examinarea microscopică a acestor bacterii este descrisă în Cazul Clinic.

Unii microbi sunt mai ușor vizibili decât alții datorită dimensiunii lor mai mari sau caracteristicilor mai ușor de observat. Mulți microbi, totuși, trebuie să treacă prin ■ mai multe proceduri de colorare înainte ca pereții celulari, capsulele și alte structuri să-și piardă starea lor naturală incoloră. Ultima parte a acestui capitol explică unele dintre cele mai frecvent utilizate metode de pregătire a probelor pentru examinare printr-un microscop cu lumină.

S-ar putea să vă întrebați cum vom sorta, număra și măsura specimenele pe care le vom studia. Pentru a răspunde la aceste întrebări, acest capitol se deschide cu o discuție despre cum să utilizați sistemul metric pentru măsurarea microbilor.

Improprii de măsurare

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

3-1 Enumerați unitățile metrice de măsură care sunt utilizate pentru microorganisme.

Deoarece microorganismele și părțile lor componente sunt atât de mici, ele sunt măsurate în unități care nu sunt familiare pentru mulți dintre noi în viața de zi cu zi. La măsurarea microorganismelor, folosim sistemul metric. Unitatea standard de lungime în sistemul metric este metrul (m). Un avantaj major al sistemului metric este că unitățile sunt legate între ele prin factori de 10. Astfel, 1 m este egal

Caz clinic: Haos microscopic

Maryanne, un director de marketing în vârstă de 42 de ani și mamă a trei copii, lucrează ocazional de acasă, dar întotdeauna simte că nu face atât de multe lucruri acasă ca la birou. Ea a avut dureri de stomac recurente, care par să se înrăutățească. Ea glumește cu soțul ei că ar trebui să cumpere acțiuni la Pepto-Bismol, pentru că ea cumpără atât de mult. La îndemnul soțului ei, ea își face în sfârșit o programare pentru a-și vedea medicul primar. După ce a auzit că Maryanne se simte mai bine imediat după ce a luat Pepto-Bismol, medicul bănuiește că Maryanne ar putea avea un ulcer peptic asociat cu Helicobacter pylori.

Ce este Helicobacter pylori? Citiți mai departe pentru a afla. 10 decimetri (dm) sau 100 de centimetri (cm) sau 1000 de milimetri (mm). Unitățile din sistemul de măsură din SUA nu au avantajul unei conversii ușoare de către un singur actor de 10. De exemplu, folosim 3 picioare sau 36 inci pentru a egala 1 yard.

Microorganismele și componentele lor structurale sunt măsurate în unități și mai mici, cum ar fi micrometre și nanometri. Un micrometru (pm) este egal cu 0,000001 m (10“6 m) Prefixul micro indică faptul că unitatea care urmează să fie împărțită la 1 milion, sau 106 (a se vedea secțiunea „Notație exponențială” din Anexa B Un nanometru (nm) este egal cu 0,000000 m (100000000000000m) anterior 10 m sau 0,1 nm.

Tabelul 3.1 prezintă unitățile metrice de bază de lungime și unele dintre echivalentele lor din SUA. În tabelul 3.1, puteți compara unitățile de măsură microscopice cu unitățile de măsură macroscopice cunoscute în mod obișnuit, cum ar fi centimetri, metri și kilometri. Dacă priviți înainte la Figura 3.2, veți vedea dimensiunile relative ale diferitelor organisme pe scara metrică.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Dacă un microb măsoară 10 pm lungime, cât de lung este în nanometri? 3-1

Microscopie: Instrumentele

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

3-2 Diagramați calea luminii printr-un microscop compus.

3-3 Definiți mărirea și rezoluția totală.

3-4 Identificați o utilizare pentru câmp întunecat, contrast de fază, contrast de interferență diferențială, fluorescență, confocală, cu doi fotoni și microscopia acustică de scanare și comparați fiecare cu iluminarea în câmp luminos.

3-5 Explicați cum diferă microscopia electronică de microscopia cu lumină.

3-6 Identificați o utilizare pentru microscoapele TEM, SEM și cu sondă scanată.

Microscopul simplu folosit de van Leeuwenhoek în secolul al XVII-lea avea o singură lentilă și era similar cu o lupă.

Lentila oculară

(ocular) \ Remrifică imaginea formată de lentila obiectiv

Tubul corporal Transmite imaginea de la lentila obiectiv la lentila oculară

Braţ

Lentile obiective Lentile primare care măresc specimenul

Scena Ține lama microscopului în poziție

Condensator Focuss- lumina prin specimen

Diafragma Controlează cantitatea de lumină care intră în condensator

Baza

Buton de focalizare fină (a) Părți și funcții principale

Figura 3.1 Microscopul cu lumină compusă.

129 Care este mărirea totală a unui microscop cu lumină compusă cu o mărire a obiectivului de 40X și a lentilei oculare de 10X?

sticlă. Cu toate acestea, van Leeuwenhoek a fost cel mai bun șlefuitor de lentile din lume în vremea lui. Lentilele sale au fost şlefuite cu atâta precizie încât o singură lentilă ar putea mări un microb de 300X. Microscoapele sale simple i-au permis să fie prima persoană care a văzut bacterii (vezi Figura 1.2, pagina 7).

Contemporanii lui van Leeuwenhoek, precum Robert Hooke, au construit microscoape compuse, care au lentile multiple. În tact, un producător olandez de ochelari, Zaccharias Janssen, este creditat cu realizarea primului microscop compus în jurul anului 1600. Cu toate acestea, aceste microscoape compuse timpurii erau de proastă calitate și nu puteau fi folosite pentru a vedea bacteriile. Abia prin 1830 a fost dezvoltat un microscop semnificativ mai bun de către Joseph Jackson Lister (tatăl lui Joseph Lister). Diverse îmbunătățiri aduse microscopului lui Lister au dus la dezvoltarea unui microscop compus modern, cel folosit în laboratoarele de microbiologie astăzi. Studiile microscopice ale specimenelor vii au relevat interacțiuni dramatice între microbi (vezi caseta Aplicații ale microbiologiei la pagina 56.)

Microscopie de animație și colorare: Prezentare generală

Microscopie ușoară

Microscopia ușoară se referă la utilizarea oricărui tip de microscop care utilizează lumina vizibilă pentru a observa specimenele. Aici examinăm mai multe tipuri de microscopie ușoară.

Microscopie cu lumină compusă

Un microscop cu lumină compus modern are o serie de lentile și folosește lumina vizibilă ca sursă de iluminare (Figura 3.1a). Cu un microscop cu lumină compusă, putem examina specimene foarte mici, precum și unele dintre detaliile lor fine. O serie de lentile fin măcinate (Figura 3.1b) formează o imagine clar focalizată care este de multe ori mai mare decât specimenul în sine. Această mărire se realizează atunci când razele de lumină de la un iluminator, sursa de lumină, trec printr-un condensator, care are lentile care direcționează razele de lumină prin specimen. De aici, razele de lumină trec în lentilele obiectivului, lentilele cele mai apropiate de specimen. Imaginea specimenului este mărită din nou de lentila oculară sau de ocular.

Putem calcula mărirea totală a unui specimen înmulțind mărirea obiectivului (puterea) cu ocularul

Ce este acel Slime?

Când bacteriile cresc, ele rămân adesea împreună în pachete numite biofilme. Acest lucru poate duce la o peliculă slim pe pietre, pe alimente, în interiorul țevilor și pe dispozitivele medicale implantate. Celulele bacteriene interacționează și prezintă organizare multicelulară (Figura A).

Pseudomonas aeruginosa poate crește în interiorul unui om fără a provoca boală până când bacteriile formează un biofilm care învinge sistemul imunitar al gazdei. Bacteriile formatoare de biofilm P. aeruginosa colonizează plămânii pacienților cu fibroză chistică și reprezintă o cauză principală de deces la acești pacienți (Figura B). Poate că biofilmele care duc la boli pot fi prevenite prin noi medicamente care distrug inductorul (discutat pe scurt).

Figura A Paenibacillus. Pe măsură ce o colonie mică se îndepărtează de colonia părinte, alte grupuri de celule urmează prima colonie. În curând, toate celelalte bacterii se alătură relocarii pentru a forma această colonie în spirală.

Mixobacterii

Mixobacterii se găsesc în materialul organic în descompunere și în apa dulce din întreaga lume. Deși sunt bacterii, multe mixobacterii nu există niciodată ca celule individuale. Celulele Myxococcus xanthus par să vâneze în haite. În habitatul lor natural apos, M.xanthus ce\\s formează colonii sferice care înconjoară bacteriile de pradă, unde pot secreta enzime digestive și pot absorbi nutrienții. Pe substraturi solide, alte celule mixobacteriene alunecă pe o suprafață solidă, lăsând urme de slime care sunt urmate de alte celule. Când hrana este rară, celulele se adună pentru a forma o masă. Celulele din masă se diferențiază într-un corp fructifer care constă dintr-o tulpină de slime și grupuri de spori, așa cum se arată în Figura C.

Vibrio

Aliivibrio fischeri este o bacterie bioluminiscentă care trăiește ca simbiont în organul care produce lumină al calmarilor și al anumitor pești. Când trăiesc liber, bacteriile sunt la o concentrație scăzută și nu emit lumină, totuși, atunci când cresc în gazda lor, sunt foarte concentrate și fiecare celulă este indusă să producă enzima luciferaza, care este utilizată în calea chimică a bioluminiscenței.

Cum funcționează comportamentul de grup bacterian

Densitatea celulară modifică expresia genelor în celulele bacteriene într-un proces numit cvorum sensing. În drept, cvorumul este numărul minim de membri necesar pentru a desfășura afaceri. Sensarea cvorumului este capacitatea bacteriilor de a comunica și de a coordona comportamentul. Bacteriile care folosesc cvorum sensing produc și secretă o substanță chimică de semnalizare numită

un inductor. Pe măsură ce inductorul difuzează în mediul înconjurător, alte celule bacteriene se deplasează spre sursă și încep să producă inductor. Concentrația de inductor crește odată cu creșterea numărului de celule. Aceasta, la rândul său, atrage mai multe celule și inițiază sinteza mai multor inductori.

Figura CA corp fructifer al unei mixobacterii.

mărirea obiectivului (putere). Cele mai multe microscoape utilizate în microbiologie au mai multe lentile obiective, inclusiv 10X (putere mică), 40X (putere mare) și 100X (imersie în ulei, care este descris la pagina 58). Majoritatea lentilelor oculare măresc specimenele cu un factor de 10. Înmulțind mărirea unui obiectiv specific cu cea a ocularului, vedem că măririle totale ar fi de 100X pentru putere mică, 400X pentru putere mare și 1000X pentru imersie în ulei. Unele microscoape cu lumină compusă pot atinge o mărire totală de 2000X cu lentila cu imersie în ulei.

Rezoluția (numită și putere de rezoluție) este capacitatea lentilelor de a distinge detaliile fine și structura. Mai exact, se referă la capacitatea lentilelor de a distinge două puncte a

distanta specificata distanta. De exemplu, dacă un microscop are o putere de rezoluție de 0,4 nm, poate distinge două puncte dacă sunt la cel puțin 0,4 nm unul de celălalt. Un principiu general al microscopiei este că, cu cât lungimea de undă a luminii utilizată în instrument este mai mică, cu atât rezoluția este mai mare. Lumina albă folosită într-un microscop cu lumină compusă are o lungime de undă relativ mare și nu poate rezolva structuri mai mici de aproximativ 0,2 pm. Acest fapt și alte considerații practice limitează mărirea atinsă chiar și de cele mai bune microscoape cu lumină compusă la aproximativ 2000X. Prin comparație, microscoapele lui van Leeuwenhoek au avut o rezoluție de 1 pm.

Figura 3.2 prezintă diverse specimene care pot fi rezolvate de ochiul uman, microscopul luminos și microscopul electronic.

Pentru a obține o imagine clară, fin detaliată la un microscop cu lumină compusă, specimenele trebuie făcute să contrasteze puternic cu mediul lor (substanța în care sunt suspendate). Pentru a obține un astfel de contrast, trebuie să schimbăm indicele de refracție al specimenelor față de cel al mediului lor. „Indexul de refracție este o măsură a capacității de curbare a luminii a unui mediu. Schimbăm indicele de refracție al specimenelor prin colorarea acestora, procedură pe care o vom discuta în scurt timp. Razele de lumină se deplasează în linie dreaptă printr-un singur mediu. După ce specimenul este colorat, atunci când razele de lumină trec prin cele două materiale (eșantionul și mediul său) cu indici de refracție diferiți, razele își schimbă direcția (refracta) dintr-o cale dreaptă prin îndoire sau schimbarea unghiului la limita dintre materiale și măresc contrastul imaginii dintre specimen și mediu. Pe măsură ce razele de lumină se îndepărtează de specimen, ele se răspândesc și intră în lentila obiectivului, iar imaginea este astfel mărită.

Pentru a obține o mărire ridicată (1000X) cu o rezoluție bună, obiectivul trebuie să fie mic. Deși dorim ca lumina care călătorește prin specimen și mediu să se refracte diferit, nu dorim să pierdem razele de lumină după ce au trecut prin specimenul colorat. Pentru a păstra direcția razelor de lumină la cea mai mare mărire, uleiul de imersie este plasat între lama de sticlă și lentila obiectivului de imersie în ulei (Figura 3.3). Uleiul de imersie are același indice de refracție ca și sticla, astfel încât uleiul devine parte a opticii sticlei microscopului. Cu excepția cazului în care se folosește ulei de imersie, razele de lumină sunt refractate pe măsură ce intră în aer de pe diapozitiv, iar lentila obiectivului ar trebui să fie mărită în diametru pentru a capta majoritatea acestora. Uleiul are același efect ca și creșterea diametrului obiectivului; prin urmare, îmbunătățește puterea de rezoluție a lentilelor. Dacă uleiul nu este folosit cu o lentilă obiectiv cu imersie în ulei, imaginea devine neclară, cu rezoluție slabă.

În condiții obișnuite de funcționare, câmpul vizual într-un microscop cu lumină compusă este puternic iluminat. Prin focalizarea luminii, condensatorul produce o iluminare în câmp luminos (Figura 3.4a).

Nu este întotdeauna de dorit să colorați un exemplar. Cu toate acestea, o celulă nepătată are puțin contrast cu mediul înconjurător și, prin urmare, este dificil de văzut. Celulele necolorate sunt mai ușor de observat cu microscoapele compuse modificate descrise în secțiunea următoare.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Prin ce lentile trece lumina într-un microscop compus? 3-2

Ce înseamnă când un microscop are o rezoluție de

0,2 nm? 3-3

Microscopie în câmp întunecat

Un microscop în câmp întunecat este utilizat pentru a examina microorganismele vii care fie sunt invizibile în microscopul luminos obișnuit, nu pot fi colorate prin metode standard, fie sunt atât de distorsionate prin colorare încât caracteristicile lor nu pot fi identificate. În loc de condensatorul normal, un microscop în câmp întunecat folosește un condensator în câmp întunecat care conține un disc opac. Discul blochează lumina care ar pătrunde direct în lentila obiectivului. Doar lumina care este reflectată (întoarsă de) specimenul intră în lentila obiectivului. Deoarece nu există lumină de fundal directă, specimenul pare deschis pe un fundal negru - câmpul întunecat (Figura 3.4b). Această tehnică este frecvent utilizată pentru a examina microorganismele necolorate suspendate în lichid. O utilizare pentru microscopia câmpului întunecat este examinarea spirochetelor foarte subțiri, cum ar fi Treponema pallidum (tre-po-ne'ma pal'li-dum), agentul cauzal al sifilisului.

Microscopie cu contrast de fază

O altă modalitate de a observa microorganismele este cu un microscop cu contrast de fază. Microscopia cu contrast de fază este deosebit de utilă deoarece permite examinarea detaliată a structurilor interne ale microorganismelor vii. În plus, nu este necesară fixarea (atașarea microbilor la lama microscopului) sau colorarea probelor-proceduri care ar putea distorsiona sau ucide microorganismele.

Principiul microscopiei cu contrast de fază se bazează pe natura ondulatorie a razelor de lumină și pe faptul că razele luminoase pot fi în fază (vârfurile și văile lor se potrivesc) sau defazate. Dacă vârful undei razelor de lumină dintr-o sursă coincide cu vârful undei razelor de lumină dintr-o altă sursă, razele interacționează pentru a produce întărire (luminozitate relativă). Cu toate acestea, dacă vârful undei de la o sursă de lumină coincide cu valul de la o altă sursă de lumină, razele interacționează pentru a produce interferențe (întuneric relativ). Într-un microscop cu contrast de fază, un set de raze de lumină vine direct de la sursa de lumină. Celălalt set provine din lumina care este reflectată sau difractată dintr-o anumită structură din specimen. (Difracția este împrăștierea razelor de lumină în timp ce „ating” marginea unui specimen. Razele difractate sunt îndoite departe de razele de lumină paralele care trec mai departe de specimen.) Când cele două seturi de raze de lumină - raze directe și raze reflectate sau difractate - sunt reunite, ele formează o imagine a specimenului pe lentila oculară, prin zone de lumină relativ neagră, care sunt în faza relativ neagră. (defazat; Figura 3.4c). În microscopia cu contrast de fază, structurile interne ale unei celule devin mai clar definite.

Microscoape și mărire

CONCEPTE-CHEIE

0,1 m

1 cm

1 mm

T

10 nm

0,1 nm

ora 22

Microscop cu lumină

200 nm-10 mm

Ochiul neajutat

>200 pm

Microscop de forță atomică Ost nm-10 nm

— 1 nm

Microscop electronic cu transmisie 10pm-100pm

Scanare _ microscop electronic 10 nm-1 mm

Microscoapele sunt folosite pentru a mări obiectele mici.

Deoarece diferite microscoape au diferite rezoluții .iges. .Dimensiunea unui specimen determină ce microscoape pot fi folosite pentru a vizualiza specimenul în mod eficient.

Majoritatea micrografiilor prezentate în acest manual (precum cele de mai jos) au bare de dimensiune și simboluri pentru a vă ajuta să identificați dimensiunea reală a specimenului și tipul de microscop folosit pentru imaginea respectivă.

O pictogramă roșie indică faptul că o micrografie a fost colorată artificial.

— 100 seara

— ora 22

--100 nm

Dacă o bacterie are o lungime de un micrometru și degetul tău arătător are 6,5 cm lungime, câte dintre bacterii poți pune cap la cap pe deget? Răspuns: 32.500. •

Microscopia cu contrast cu interferență diferențială (DIC) Microscopia cu contrast cu interferență diferențială (DIC) este similară cu microscopia cu contrast de fază, prin aceea că folosește diferențele de indici de refracție. Cu toate acestea, un microscop DIC folosește două fascicule de lumină în loc de unul. În plus, prismele despart fiecare fascicul de lumină, adăugând culori contrastante specimenului. Prin urmare, rezoluția unui microscop DIC este mai mare decât cea a unui microscop standard cu contrast de fază. De asemenea, imaginea este viu colorată și apare aproape tridimensională (Figura 3.5).

Microscopie cu fluorescență

Microscopia cu fluorescență profită de fluorescență, capacitatea substanțelor de a absorbi lungimi de undă scurte de lumină (ultraviolete) și de a emite lumină la o lungime de undă mai mare (vizibilă). Unele organisme fluoresc în mod natural sub lumina ultravioletă; dacă specimenul care urmează să fie vizualizat nu are fluorescență naturală, acesta este colorat cu unul dintr-un grup de coloranți fluorescenți numiti Jluorochromes. Când microorganismele colorate cu un fluorocrom sunt examinate la un microscop cu fluorescență cu o sursă de lumină ultravioletă sau aproape ultravioletă, ele apar ca obiecte luminiscente, strălucitoare pe un fundal întunecat.

Fluorocromii au atracții speciale pentru diferite microorganisme. De exemplu, fluorocromul auramina O, care strălucește galben atunci când este expus la lumina ultravioletă, este puternic absorbită de Mycobacterium tuberculosis, bacteria care provoacă tuberculoza. Când colorantul este aplicat pe un eșantion de material suspectat de a conține bacteria, bacteria poate fi detectată prin apariția unor organisme galben strălucitor pe un fundal

întunecat. Bacillus anthracis, agentul cauzal al antraxului, pare verde măr atunci când este colorat cu un alt fluorocrom, izotiocianat de fluoresceină (FITC).

„Prima utilizare a microscopiei cu fluorescență este o tehnică de diagnostic numită tehnică cu anticorpi fluorescenți (FA) sau imunofluorescență. Anticorpii sunt molecule naturale de apărare care sunt produse de oameni şi multe animale ca reacție la o substanță străină sau antigen. Anticorpii fluorescenți pentru un anumit antigen sunt obținuți după cum urmează: unui animal i se injectează un antigen specific, cum ar fi o bacterie, iar animalul începe apoi să producă anticorpi împotriva acelui antigen. După un timp suficient, anticorpii sunt îndepărtați din serul animalului. Apoi, așa cum se arată în Figura 3.6a, un fluorocrom este combinat chimic cu anticorpii. „Acești anticorpi fluorescenți sunt apoi adăugați pe o lamă de microscop care conține o bacterie necunoscută. Dacă această bacterie necunoscută este aceeași bacterie care a fost injectată în animal, anticorpii fluorescenți se leagă de antigenele de pe suprafața bacteriei, determinând fluorescerea acesteia.

Această tehnică poate detecta bacterii sau alte microorganisme patogene, chiar și în interiorul celulelor, țesuturilor sau altor specimene clinice (Figura 3.6b). De o importanță capitală, poate fi folosit pentru a identifica un microb în câteva minute. Imunofluorescența este deosebit de utilă în diagnosticarea sifilisului și a rabiei. Vom spune mai multe despre reacțiile antigenanticorp și imunofluorescență în capitolul 18.

Figura 3.3 Refracția în microscopul compus folosind o lentilă obiectiv cu imersie în ulei. Deoarece indicii de refracție ai lamei de microscop din sticlă și ai uleiului de imersie sunt aceiași, razele de lumină nu se refractă atunci când trec de la una la alta atunci când se folosește o lentilă de obiectiv cu imersie în ulei. Utilizarea uleiului de imersie este necesară la măriri mai mari de 900X.

la 1000X dar nu cu cea mai mică

Microscopie confocală

Microscopia confocală este o tehnică în microscopia luminoasă utilizată pentru a reconstrui imagini tridimensionale. La fel ca microscopia fluorescentă, specimenele sunt colorate cu fluorocromi, astfel încât să emită sau să returneze lumină. Dar, în loc să ilumineze întregul câmp, în microscopia confocală, un plan al unei regiuni mici a unui specimen este iluminat cu o lumină cu lungime de undă scurtă (albastru) care trece lumina returnată printr-o deschidere aliniată cu regiunea iluminată. Fiecare plan corespunde unei imagini a unei felii fine care a fost tăiată fizic dintr-un specimen. Planurile și regiunile succesive sunt iluminate până când întregul specimen a fost scanat. Deoarece microscopia confocală folosește o deschidere pinhole, elimină neclaritatea care apare cu alte microscoape. Ca rezultat, pot fi obținute imagini bidimensionale excepțional de clare, cu o rezoluție îmbunătățită cu până la 40% față de cea a altor microscoape.

Cele mai multe microscoape confocale sunt folosite împreună cu computerele pentru a construi imagini tridimensionale. Planurile scanate ale unui specimen, care seamănă cu un

teanc de imagini, sunt convertite într-o formă digitală care poate fi folosită de un computer pentru a construi o reprezentare tridimensională. Imaginile reconstruite

Ochi

Ochi

Ochi

Aprinde

Lentila oculară

Lentila obiectiv

Specimen

Lentila de condensator

Lumină nereflectată

Disc opac

Aprinde

Doar lumina reflectată de specimen este captată de obiectivul

--Lentile oculare

- Lentila condensatorului

Diafragma inelară

Aprinde

Piața de difracție

Lumină nedifractată (nealterată de specimen)

- Lentila obiectiv

Lumină refractată sau difractată (alterată de specimen)

Specimen

LM

20

ora 20 seara

ora 20 seara

(a) Câmp luminos. (Sus) Calea luminii în microscopia cu câmp luminos, tipul de iluminare produs de microscoapele obișnuite cu lumină compusă. (De jos) Iluminarea câmpului luminos arată structurile interne și conturul peliculei transparente (acoperire externă).

(b) Câmp întunecat. (Sus) Microscopul de câmp întunecat folosește un condensator special cu un disc opac care elimină toată lumina din centrul fasciculului. Singura lumină care ajunge la specimen intră în unghi; astfel, doar lumina reflectată de specimen (razele

albastre) ajunge la lentila obiectivului. (De jos) Pe fundalul negru văzut cu microscopia câmpului întunecat, marginile celulei sunt strălucitoare, unele structuri interne par să strălucească, iar pelicula este aproape vizibilă.

(c) Contrastul de fază. (Sus) În microscopia cu contrast de fază, specimenul este iluminat de lumina care trece printr-o diafragmă inelară (în formă de inel). Razele de lumină directă (nealterate de specimen) parcurg o cale diferită de razele de lumină care sunt reflectate sau difractate pe măsură ce trec prin specimen. Aceste două seturi de raze sunt combinate la nivelul ochiului. Razele de lumină reflectate sau difractate sunt indicate cu albastru; razele directe sunt roșii. (De jos) Microscopia cu contrast de fază arată o diferențiere mai mare a structurilor interne și arată clar pelicula.

Figura 3.4 microscopie în câmp luminos, câmp întunecat și contrast de fază. Ilustrațiile arată căile de lumină contrastante ale fiecăruia dintre aceste tipuri de microscopie. Fotografiile compară parameciul protozoar folosind aceste trei tehnici diferite de microscopie.

sunt avantajele microscopiei cu câmp luminos, câmp întunecat și cu contrast de fază?

poate fi rotit și vizualizat în orice orientare. Această tehnică a fost folosită pentru a obține imagini tridimensionale ale celulelor întregi și ale componentelor celulare (Figura 3.7). În plus, microscopia confocală poate fi utilizată pentru a evalua fiziologia celulară prin monitorizarea distribuțiilor și concentrațiilor de substanțe precum ATP și ionii de calciu. Microscopie ușoară de animație

Microscopie cu doi fotoni

Ca și în microscopia confocală, specimenele sunt colorate cu un fluorocrom pentru microscopia cu doi fotoni (TPM). Microscopia cu doi fotoni folosește lumină cu lungime de undă lungă (roșie) și, prin urmare, doi fotoni, în loc de unul, sunt necesari pentru a excita fluorocromul să emită lumină, lungimea de undă mai mare permite imagistica celulelor vii în țesuturi de până la 1 mm (1000 pm) adâncime (Figura 3.8). Microscopia confocală poate imaginea celulele în detaliu doar la o adâncime mai mică de 100 pm. În plus, lungimea de undă mai mare este mai puțin probabil să genereze oxigen singlet, care dăunează celulelor (vezi pagina 159). Un alt avantaj al TPM este că poate urmări activitatea celulelor în timp real. De exemplu, celulele sistemului imunitar au fost observate care răspund la un antigen.

microscopul apar luminos

Microscopie acustică de scanare

Microscopia acustică de scanare (SAM) constă practic în interpretarea acțiunii unei unde sonore transmise printr-un specimen. O undă sonoră cu o anumită frecvență călătorește prin specimen și o parte a acesteia este reflectată înapoi de fiecare dată când lovește o interfață din material. Rezoluția este în jurul orei 13.00. SAM este folosit pentru a studia celulele vii atașate la o altă suprafață, cum ar fi celulele canceroase, placa arterială și biofilmele bacteriene care murdăresc echipamentul (Figura 3.9).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum sunt similare microscopia cu câmp luminos, câmp întunecat, contrast de fază și fluorescență? 3-4

Microscopia electronică

Obiectele mai mici de aproximativ 0,2 pm, cum ar fi virușii sau structurile interne ale celulelor, trebuie examinate cu un microscop electronic. În microscopia electronică, în locul luminii este folosit un fascicul de electroni. La fel ca lumina, electronii arborilor călătoresc în valuri. Puterea de rezoluție a microscopului electronic este mult mai mare decât cea a celorlalte microscoape descrise aici până acum. Rezoluția mai bună a microscoapelor electronice se datorează lungimilor de undă mai scurte ale electronilor; lungimile de undă ale electronilor sunt de aproximativ 100.000 de ori mai mici decât lungimile de undă ale luminii vizibile. Astfel, microscoapele electronice sunt folosite pentru a examina structuri prea mici pentru a fi rezolvate cu microscoape ușoare. Imaginile produse de microscoapele electronice sunt întotdeauna alb-negru, dar pot fi colorate artificial pentru a accentua anumite detalii.

În loc să folosească lentile de sticlă, un microscop electronic folosește lentile electromagnetice pentru a focaliza un fascicul de electroni asupra unui specimen. Există două tipuri de microscoape electronice: microscopul electronic cu transmisie și microscopul electronic cu scanare.

CF

Figura 3.7 Microscopia confocală. Microscopia confocală produce imagini tridimensionale și poate fi folosită pentru a privi în interiorul celulelor. Aici este prezentat nucleul din Paramecium multimicronucleatum.

TPM

ora 25

Figura 3.8 Microscopie cu doi fotoni (TPM). Această procedură face posibilă imaginea celulelor vii de până la 1 mm adâncime în detaliu. Această imagine arată vacuolele alimentare într-un Paramecium viu.

[QÎ] Care sunt avantajele microscopiei confocale?

Care sunt diferențele dintre TPM și microscopia confocală?

Microscopia electronică cu transmisie

În microscopul electronic cu transmisie (TEM), un fascicul de electroni fin focalizat de la un tun de electroni trece printr-o secțiune ultrasubțire special pregătită a specimenului (Figura 3.10a). Fasciculul este focalizat pe o zonă mică a specimenului de o lentilă de condensator electromagnetic care îndeplinește aproximativ aceeași funcție ca și condensatorul unui microscop cu lumină - direcționând fasciculul de electroni într-o linie dreaptă pentru a ilumina specimenul.

Microscoapele electronice folosesc lentile electromagnetice pentru a controla iluminarea, focalizarea și mărirea. În loc să fie plasat pe o lamă de sticlă, ca în microscoapele cu lumină, specimenul este de obicei plasat pe o rețea de plasă de cupru. Fasciculul de electroni trece prin eșantion și apoi printr-o lentilă obiectiv electromagnetică, care mărește imaginea. În cele din urmă, electronii sunt focalizați de o lentilă de proiector electromagnetică (mai degrabă decât de o lentilă oculară ca într-un microscop cu lumină) pe un ecran fluorescent sau o placă fotografică. Imaginea finală, numită micrografie electronică de transmisie, apare cât mai multe zone luminoase și întunecate, în funcție de numărul de electroni absorbiți de diferite zone ale specimenului.

Microscopul electronic cu transmisie poate rezolva obiecte atât de apropiate ca la 22:00, iar obiectele sunt în general mărite cu 10.000 până la 100.000 X. Deoarece majoritatea specimenelor microscopice sunt atât de subțiri, contrastul dintre ultrastructurile lor și fundal este slab. Contrastul poate fi îmbunătățit foarte mult prin utilizarea unei „păte" care absoarbe electronii și produce o imagine mai întunecată în regiunea colorată. Sărurile diferitelor metale grele, cum ar fi plumbul, osmiul, tungstenul și uraniul, sunt utilizate în mod obișnuit ca pete. Aceste metale pot fi fixate pe specimen (colorare pozitivă) sau utilizate pentru a crește opacitatea electronilor a câmpului înconjurător (colorare negativă). Colorarea negativă este utilă pentru studiul celor mai mici specimene, cum ar fi particulele de virus, flagele bacteriene și moleculele de proteine.

Pe lângă colorarea pozitivă și negativă, un microbi poate fi văzut printr-o tehnică numită turnare a umbrei. În această procedură, un metal greu, cum ar fi platina sau aurul, este pulverizat la un unghi de aproximativ 45°, astfel încât să lovească microbul doar dintr-o parte. Metalul se adună pe o parte a specimenului, iar zona neacoperită de pe partea opusă a specimenului lasă în spate o zonă clară ca o umbră. Acest lucru dă un efect tridimensional specimenului

tsa Care este principala utilizare a SAM?

și oferă o idee generală despre dimensiunea și forma specimenului (vezi TE2vI în Figura 4.6, pagina 79).

Microscopia electronică cu transmisie are rezoluție înaltă și este extrem de valoroasă pentru examinarea diferitelor straturi de specimene. Cu toate acestea, are anumite dezavantaje. Deoarece electronii au putere de penetrare limitată, doar o secțiune foarte subțire a unui specimen (aproximativ 100 nm) poate fi studiată eficient. Astfel, specimenul nu are aspect tridimensional. În plus, specimenele trebuie fixate, deshidratate și vizualizate sub vid înalt pentru a preveni împrăștierea electronilor. Aceste tratamente nu numai că ucid specimenul, dar provoacă și o oarecare contracție și distorsiune, uneori în măsura în care pot părea că există structuri suplimentare într-o celulă pregătită. Structurile care apar ca urmare a metodei de preparare se numesc artefacte. .

Microscopia electronică cu scanare

Microscopul electronic cu scanare (SEM) depășește problema secționării asociată cu un microscop electronic cu transmisie. Un microscop electronic cu scanare oferă vederi tridimensionale uimitoare ale specimenelor (Figura 3.10b). În microscopia electronică cu scanare, un tun de electroni produce un fascicul de electroni fin focalizat numit fascicul de electroni primar. Acești electroni trec prin lentile electromagnetice și sunt direcționați peste suprafața specimenului. Fasciculul de electroni primar scoate electronii de pe suprafața specimenului, iar electronii secundari astfel produși sunt transmiși la un colector de electroni, amplificați și utilizați pentru a produce o imagine pe un ecran de vizualizare sau pe o placă fotografică. Imaginea se numește micrografie electronică cu scanare. Acest microscop este în special

Care este principiul folosit în microscopia cu sondă scanată?

util în studierea structurilor de suprafață ale celulelor și virusurilor intacte. În practică, poate rezolva obiecte cât mai apropiate între ele de 10 nm, iar obiectele sunt în general mărite de la 1000 la 10,0()0X. (mm;' Microscopie electronică de animație

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce microscoapele electronice au o rezoluție mai mare decât microscoapele cu lumină? 3-5

Caz clinic

Helicobacter pylori este o bacterie gram-negativă, în formă de spirală, cu flageli multipli. Este cea mai frecventă cauză a ulcerului peptic la om și poate provoca, de asemenea, cancer de stomac. Prima micrografie electronică a H. pylori a fost văzută în anii 1980, când medicul australian Robin Warren a folosit un microscop electronic pentru a vedea H. pylori în țesutul stomacal.

De ce a fost necesar un microscop electronic pentru a vedea bacteria H. pylori?

64 69 71

Microscopie cu sondă scanată

De la începutul anilor 1980, au fost dezvoltate mai multe tipuri noi de microscoape, numite microscoape cu sondă scanată. Ei folosesc diferite tipuri de sonde pentru a examina suprafața unui specimen folosind curent electric, care nu modifică specimenul și nu îl expune la radiații dăunătoare, de înaltă energie. Astfel de microscoape pot fi folosite pentru a mapa forme atomice și moleculare, pentru a caracteriza proprietățile magnetice și chimice și pentru a determina variațiile de temperatură în interiorul celulelor. Printre noile micro-uri cu sondă scanată, opțiunile sunt microscopul de scanare cu tunel și microscopul cu forță atomică, discutate în continuare.

Microscopie de scanare de tunel

Microscopia de scanare cu tunel (STM) folosește o sondă subțire de metal (tungsten) care scanează un specimen și produce o imagine care dezvăluie denivelările și depresiunile atomilor de pe suprafața specimenului (Figura 3.11a). Puterea de rezoluție a unui STM este mult mai mare decât cea a unui microscop electronic; poate rezolva caracteristici care au doar aproximativ 1/100 de dimensiunea unui atom. În plus, nu este necesară pregătirea specială a specimenului pentru observare. STM-urile sunt folosite pentru a oferi imagini incredibil de detaliate ale moleculelor precum ADN-ul.

Microscopia cu forță atomică

În microscopia cu forță atomică (AFM), o sondă de metal și diamant este forțată ușor în jos pe un specimen. Pe măsură ce sonda se mișcă de-a lungul suprafeței specimenului, mișcările sale sunt înregistrate și este produsă o imagine tridimensională (Figura 3.11b). Ca și în cazul STM, AFM nu necesită pregătirea specială a probei. AFM este folosit pentru a vizualiza atât substanțele biologice (în detaliu aproape atomic) (vezi și Figura 17.3b la pagina 482.) cât și procesele moleculare (cum ar fi asamblarea fibrinei, o componentă a unui cheag de sânge).

Diferitele tipuri de microscopie tocmai descrise sunt rezumate în Tabelul 3.2 (pp. 65-67).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Pentru ce este folosit TEM? SEM? Microscopie cu sondă scanată? 3-6

Pregătirea probelor pentru microscopie ușoară

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

3-7 Diferențierea unui colorant acid de un colorant bazic.

3-8 Explicați scopul colorării simple.

3-9 Enumerați pașii în pregătirea unei colorații Gram și descrieți aspectul celulelor gram-pozitive și gram-negative după fiecare pas.

3-10 Comparați și contrastați colorația Gram și colorația acido-rezistentă.

3-11 Explicați de ce se utilizează fiecare dintre următoarele: colorarea capsulei, colorarea endosporilor, colorarea flagelilor.

TABELUL 3.2 Un rezumat al diferitelor tipuri de microscoape

Caracteristici distinctive ale tipului de microscop

Aprinde

Brightfield Utilizează lumina vizibilă ca sursă

de iluminare; nu poate rezolva structuri mai mici de aproximativ 0,2 stilouri; specimenul apare pe un fundal luminos. Ieftin și ușor de utilizat.

Tipic! Imagine

Utilizări principale

Câmp întunecat

Utilizează un condensator special cu un disc opac care împiedică intrarea directă a luminii în lentila obiectivului; lumina reflectată de specimen intră în lentila obiectivului, iar specimenul apare ușor pe un fundal negru.

Contrast de fază

Utilizează un condensator special care conține o diafragmă inelară (în formă de inel). Diafragma permite luminii directe să treacă prin condensator, concentrând lumina pe specimen și o placă de difracție în lentila obiectivului. Razele de lumină directe și reflectate sau difractate sunt reunite pentru a produce imaginea. Nu este necesară colorarea.

Contrast de interferență diferențială (DIC)

La fel ca contrastul de fază, folosește diferențele de indici de refracție pentru a produce imagini. Utilizează două fascicule de lumină separate prin prisme; specimenul apare colorat ca urmare a efectului de prismă. Nu este necesară colorarea.

Fluorescență

Utilizează o sursă de iluminare ultravioletă sau aproape ultravioletă care face ca compușii fluorescenți (de culoare verde) dintr-un specimen să emită lumină.

Parameciu

ora 25

Parameciu

ora 25

Parameciu

23 seara

Treponema pallidum

Să observe diferite specimene colorate și să numere microbi; nu rezolvă specimenele foarte mici, cum ar fi virușii.

Pentru a examina microorganismele vii care sunt invizibile în microscopia câmpului luminos, nu se colorează ușor sau sunt distorsionate prin colorare; frecvent utilizat pentru a detecta Treponema pallidum în diagnosticul de sifilis.

Pentru a facilita examinarea detaliată a structurilor interne ale exemplarelor vii.

Pentru a oferi imagini tridimensionale.

Pentru tehnicile cu anticorpi fluorescenți (imunofluorescență) pentru a detecta și identifica rapid microbii în țesuturi sau specimene clinice.

(continuare)

TABEL 3.2 Un rezumat al diferitelor tipuri de microscoape (continuare)

Tip microscop

Caracteristici distinctive

Utilizări principale

Confocal

Utilizează un singur foton pentru a ilumina câte un plan al unui specimen odată.

Imagine tipică

Pentru a obține imagini bi- și tridimensionale ale celulelor pentru aplicații biomedicale.

Doi-fotoni

Folosește doi fotoni pentru a ilumina un specimen.

Parameciu

TPM

Pentru a vizualiza celulele vii, până la adâncimea de 1 mm, reduceți fototoxicitatea și observați activitatea celulelor în timp real.

Scanare acustică

Utilizează o undă sonoră cu o frecvență specifică care se deplasează prin specimen, o porțiune fiind reflectată atunci când lovește o interfață din material.

Biofilm

ora 180

Pentru a examina celulele vii atașate la o altă suprafață, cum ar fi celulele canceroase, placa arterială și biofilmele.

Electron

Transmitere

Folosește un fascicul de electroni în loc de lumină; electronii trec prin specimen; din cauza lungimii de undă mai scurte a electronilor, structurile mai mici de 0,2 pm pot fi rezolvate. Imaginea produsă este bidimensională.

Parameciu

Pentru a examina virușii sau ultrastructura internă în secțiuni subțiri ale celulelor (de obicei mărite 10.000-100.000x).

Scanare

Folosește un fascicul de electroni în loc de lumină; electronii sunt reflectați din specimen; din cauza lungimii de undă mai scurte a electronilor, structurile mai mici de 0,2 pm pot fi rezolvate. Imaginea produsă apare tridimensională.

Parameciu

Pentru a studia caracteristicile de suprafață ale celulelor și virușilor (de obicei mărite 1000-10.000x).

ora 25

TABEL 3.2 (continuare)

Caracteristici distinctive ale tipului de microscop

Sondă scanată

Scanare	Utilizează o sondă metalică subțire care scanează
tunelarea	unui specimen și produce o imagine

dezvăluind umflăturile și deoresionările atomilor de pe suprafața specimenului. Puterea de rezoluție este mult mai mare decât cea a unui microscop electronic. Nu necesită pregătire specială.

Oferă imagini tridimensionale ale specimenelor biologice la rezoluție înaltă în detalii aproape atomice și poate măsura proprietățile fizice ale specimenelor biologice și ale proceselor moleculare.

Deoarece majoritatea microorganismelor par aproape incolore când sunt privite printr-un microscop cu lumină standard, adesea trebuie să le pregătim pentru observare. O modalitate de a face acest lucru este să colorați (colorați) specimenul. În continuare vom discuta mai multe proceduri diferite de colorare.

Pregătirea frotiurilor pentru colorare

Majoritatea observațiilor inițiale ale microorganismelor se fac cu preparate colorate. Colorarea înseamnă pur și simplu colorarea microorganismelor cu un colorant care subliniază anumite structuri. Înainte ca microorganismele să poată fi colorate, totuși, acestea trebuie fixate (atașate) pe lama de microscop. Fixarea simultan ucide microorganismele și le fixează pe lamă. De asemenea, păstrează diverse părți ale microbilor în starea lor naturală, cu o distorsiune minimă.

Când o probă urmează a fi fixată, o peliculă subțire de material care conține microorganismele este întinsă pe suprafața lamei. Acest film, numit frotiu, este lăsat să se usuce la aer. În majoritatea procedurilor de colorare, lama este apoi fixată trecând-o prin flacăra unui arzător Bunsen de mai multe ori, cu fața în sus, sau prin acoperirea lamei cu alcool metilic timp de 1 minut. Pata se aplică și apoi se spală cu apă; apoi lama se tamponează cu hârtie absorbantă. Fără fixare, pata ar putea spăla microbii de pe lamă. Microorganismele colorate sunt acum gata pentru examinarea microscopică. .

Petele sunt săruri compuse dintr-un ion pozitiv și unul negativ, dintre care unul este colorat și este cunoscut sub numele de cromofor. Culoarea așa-numiților coloranți bazici este în ionul pozitiv; în coloranții acizi, este în ionul negativ. Bacteriile sunt ușor încărcate negativ la pH 7. Astfel, ionul pozitiv colorat dintr-un colorant bazic este atras de celula bacteriană încărcată negativ. Coloranții de bază, care includ violet cristal, albastru de metilen, verde de malachit și safranina, sunt utilizați mai frecvent decât coloranții acizi. Coloranții acizi nu sunt atrași de majoritatea tipurilor de bacterii, deoarece ionii negativi ai coloranților sunt respinși de suprafața bacteriană încărcată negativ, astfel încât pata colorează fundalul. Prepararea bacteriilor incolore pe un fundal colorat se numește colorare negativă. Este valoroasă pentru observarea formelor, dimensiunilor și capsulelor generale ale celulelor, deoarece celulele sunt foarte vizibile pe un fundal întunecat contrastant (vezi Figura 3.14a la pagina 70). Distorsiunile dimensiunii și formei celulei sunt reduse la minimum deoarece fixarea nu este necesară și celulele nu preiau pata. Exemple de coloranți acizi sunt eozina, fucsina acidă și nigrosina.

Pentru a aplica coloranți acizi sau bazici, microbiologii folosesc trei tipuri de tehnici de colorare: simple, diferențiale și speciale.

Pete simple

O pată simplă este o soluție apoasă sau alcoolică a unui singur colorant bazic. Deși diferiți coloranți se leagă în mod specific de diferite părți ale celulelor, scopul principal al unei simple colorări este de a evidenția întregul microorganism, astfel încât formele celulare și structurile de bază să fie vizibile. Pata este aplicată pe frotiul fix pentru o anumită perioadă de timp și apoi se spală, iar lama este uscată și

. \ _ „cheia 77 j"~i Cristal violet

Iod

| | Alcool

(,~j Safranin

£? Aplicarea

iod (mordant)

'7 Spălare cu alcool

(decolorare)

Gram-pozitiv

-Gram-negativ

Aplicarea safraninei (contracolor)

Aplicarea cristal violet (a) (colorant violet)

Figura 3.12 Colorația Gram, (a) Procedura, (b) Micrografie a bacteriilor colorate cu Gram. Cocii (violet) sunt gram-pozitivi, iar tijele (roz) sunt gram-negativi.

Cum

poate fi utilă reacția Gram

tratament?

la prescrierea antibioticului

examinat. Ocazional, se adaugă o substanţă chimică în soluţie pentru a intensifica pata; un astfel de aditiv se numește mordant. O funcţie a unui mordant este de a crește afinitatea unei pete pentru un specimen biologic; altul este să acoperiţi o structură (cum ar fi un flagel) pentru a o face mai groasă și mai ușor de văzut după ce este colorată cu un colorant. Unele dintre petele simple utilizate în mod obișnuit în laborator sunt albastru de metilen, carbolfuchsin, violet cristal și safranina.

VERIFICAŢI-VĂ ÎNŢELEGEREA

De ce o coloraţie negativă nu colorează o celulă? 3-7

De ce este necesară fixarea pentru majoritatea procedurilor de colorare? 3-8

Pete diferențiale

Spre deosebire de petele simple, petele diferențiale reacționează diferit cu diferite tipuri de bacterii și astfel pot fi folosite pentru a le distinge. Colorațiile diferențiale utilizate cel mai frecvent pentru bacterii sunt colorația Gram și colorația acido-rezistentă.

Pata Gram

Colorația Gram a fost dezvoltată în 1884 de bacteriologul danez I și Christian Gram. Este una dintre cele mai utile proceduri de colorare, deoarece clasifică bacteriile în două mari grupe: gram-pozitive și gram-negative.

În această procedură (Figura 3.12a),

Un frotiu fixat la căldură este acoperit cu un colorant purpuriu de bază, de obicei violet cristal. Deoarece pata violet imprimă culoarea tuturor celulelor, este denumită o colorare primară.

0 După un timp scurt, vopseaua violet este spălată, iar frotiul este acoperit cu iod, un mordant. Când iodul este spălat, atât bacteriile gram-pozitive, cât și gram-negative apar violet închis sau violet.

0 În continuare, lama este spălată cu alcool sau cu o soluție de alcool-acetonă. Soluția sa este un agent de decolorare, care îndepărtează cornul violet celulele unor specii, dar nu și ale altora.

0 Alcoolul este clătit, iar lama este apoi colorată cu safranină, un colorant roșu de bază. Frotiul se spală din nou, se usucă și se examinează la microscop.

Colorantul violet și iodul se combină în citoplasma fiecărei bacterii și o colorează violet închis sau violet. Bacteriile care păstrează această culoare după ce alcoolul a încercat să se decoloreze

ele sunt clasificate ca gram-pozitive; bacteriile care își pierd culoarea violet închis sau violet după decolorare sunt clasificate ca boabe negative (:figura 3.12b). Deoarece bacteriile gram-negative sunt incolore după spălarea cu alcool, acestea nu mai sunt vizibile. Acesta este motivul pentru care se aplică colorantul de bază safranina; devine roz bacteriile gram-negative. Petele precum safranina care au o culoare contrastantă cu pata primară sunt numite contrapete. Deoarece bacteriile gram-pozitive păstrează pata purpurie originală, ele nu sunt afectate de contrapata de safranină.

După cum veți vedea în capitolul 4, diferitele tipuri de bacterii reacţionează dilerent la colorația Gram, deoarece diferenţele structurale ale pereţilor lor celulari afectează reţinerea sau scăparea unei combinaţii de cristal violet și iod, numită complex cristal violet-iod (CV-I). Printre alte diferențe, bacteriile gram-pozitive au un perete celular de peptidoglican

(dizaharide și aminoacizi) mai gros decât bacteriile gram-negative. În plus, bacteriile gram-negative conțin un strat de lipopolizaharide (lipide și polizaharide) ca parte a peretelui lor celular (vezi Figura 4.13, pagina 85). Când se aplică atât celulelor gram-pozitive cât și gram-negative, cristalul violet și apoi iodul intră ușor în celule. În interiorul celulelor, cristalul violet și iodul se combină pentru a forma CV-I. Acest complex este mai mare decât molecula de cristal violet care a intrat în celule și, din cauza dimensiunii sale, nu poate fi spălat din stratul intact de peptidoglican al celulelor gram-pozitive de alcool. În consecință, celulele gram-pozitive păstrează culoarea colorantului violet cristal. În celulele gram-negative, totuși, spălarea cu alcool perturbă stratul exterior de lipopolizaharidă, iar complexul CV-I este spălat prin stratul subțire de peptidoglican. Ca urmare, celulele gram-negative sunt incolore până la contracolorare cu safranină, după care devin roz.

Pe scurt, celulele gram-pozitive rețin colorantul și rămân violet. Celulele Gram-negative nu rețin colorantul; sunt incolore până la contrapătarea cu un colorant roșu.

Metoda Gram este una dintre cele mai importante tehnici de colorare din microbiologia medicală. Dar rezultatele colorației Gram nu sunt universal aplicabile, deoarece unele celule bacteriene se colorează slab sau deloc. „Reacția Gram este cea mai consistentă atunci când este utilizată pe bacterii tinere, în creștere.

„Reacția Gram a unei bacterii poate oferi informații valoroase pentru tratamentul bolii. Bacteriile Gram pozitive tind să fie ucise cu ușurință de peniciline și cefalosporine. Bacteriile gramnegative sunt în general mai rezistente deoarece antibioticele nu pot pătrunde în stratul de lipopolizaharidă. O oarecare rezistență la aceste antibiotice în rândul bacteriilor gram-pozitive și gram-negative se datorează inactivării bacteriene a antibioticelor.

Pată acid-rezistentă

O altă colorare diferențială importantă (una care diferențiază bacteriile în grupuri distincte) este colorația acido-rezistentă, care se leagă puternic doar de bacteriile care au un material ceros în pereții lor celulari. Microbiologii folosesc această pată pentru a identifica toate bacteriile din genul Mycobacterium, inclusiv cei doi agenți patogeni importanți Mycobacterium tuberculosis, agentul cauzator al tuberculozei, și Mycobacterium leprae (lep'ri), agentul cauzator al leprei. Această pată este, de asemenea, utilizată pentru a identifica tulpinile patogene ale genului Nocardia (no-kar'de-a). Bacteriile din genurile Mycobacterium și Nocardia sunt acido-rezistente.

În procedura de colorare acido-rezistentă, colorantul roșu carbolfuchsin este aplicat pe un frotiu fix, iar lama este încălzită ușor timp de câteva minute. (Încălzirea îmbunătățește penetrarea și reținerea colorantului.) Apoi lama este răcită și spălată cu apă. Frotiul este apoi tratat cu acid-alcool, un decolorant, care îndepărtează pata roșie de la bacteriile care nu sunt acido-rezistente. Microorganismele acido-resistente păstrează culoarea roz sau roșie deoarece carbolfucsina este mai solubilă în lipidele peretelui celular decât în acid-alcool (Figura 3.13). În bacteriile non-acido-resistente, ale căror pereți celulari sunt lipsiți de componentele lipidice, carbolfuchsinul este îndepărtat rapid în timpul decolorării, lăsând

celulele incolore. Frotiul este apoi colorat cu un contracolor de albastru de metilen. Celulele non-acido-rezistente apar albastre după aplicarea contracolorului.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce este atât de utilă colorația Gram? 3-9

Ce colorant ar fi folosit pentru a identifica microbii din genurile Mycobacterium și Nocardia? 3-10

Pete speciale

Petele speciale sunt folosite pentru a colora și a izola anumite părți ale microorganismelor, cum ar fi endosporii și flagelii, și pentru a dezvălui prezența capsulelor.

Caz clinic

Puterea de rezoluție a microscopului electronic este mult mai mare decât cea a unui microscop cu lumină. Rezoluția mai mare a oferit o dovadă fără echivoc a prezenței bacteriilor spiralate.

Deși bismutul (ingredientul cheie din Pepto-Bismol) ucide H. pylori, nu este un remediu. Medicul lui Maryanne prescrie antibioticul claritromicină. Cu toate acestea, la o săptămână după terminarea tratamentului, simptomele lui Maryanne continuă. Pentru a vedea dacă H. pylori este încă prezent, medicul ei ordonă

o biopsie de stomac pentru a obține o probă din mucoasa mucoasă a stomacului lui Maryanne. Laboratorul folosește microscoy ușor și o colorație Gram pentru a vizualiza proba.

Ce arată pata de gram de mai sus?

■ 69

Colorare negativă pentru capsule

Multe microorganisme conțin o acoperire gelatinoasă numită capsulă, despre care vom discuta în examinarea celulei procariote din capitolul 4. În microbiologia medicală, demonstrarea prezenței unei capsule este un mijloc de determinare a virulenței organismului, a gradului în care un agent patogen poate provoca boală.

Colorarea capsulelor este mai dificilă decât alte tipuri de proceduri de colorare, deoarece materialele capsulare sunt solubile în apă și pot fi dislocate sau îndepărtate în timpul spălării riguroase. Pentru a demonstra prezența capsulelor, un microbiolog poate amesteca bacteriile într-o soluție care conține o suspensie coloidală fină de particule colorate (de obicei, cerneală indiană sau nigrosin) pentru a oferi un fundal contrastant și apoi colora bacteriile cu o pată simplă, cum ar fi safranina (Figura 3.14a). Datorită compoziției lor

chimice, capsulele nu acceptă majoritatea coloranților biologici, cum ar fi safranina, și astfel apar ca halouri în jurul fiecărei celule bacteriene colorate.

Colorare cu endospori (spori).

Un endospor este o structură specială rezistentă, latentă, formată într-o celulă, care protejează o bacterie de condițiile de mediu nefavorabile. Deși endosporii sunt relativ neobișnuiți în celulele bacteriene, aceștia pot fi formați de câteva genuri de bacterii. Endosporii nu pot fi colorați prin metode obișnuite, cum ar fi colorarea simplă și colorarea Gram, deoarece coloranții nu pătrund în peretele endosporului.

Cel mai frecvent colorat de endospori utilizat este colorația de endospori Schaeffer-Fulton (Figura 3.14b). Verde malachit, cel

Figura 3.14 Colorare specială, (a) Colorarea capsulei oferă un fundal contrastant, astfel încât capsulele acestor bacterii, Klebsiella pneumoniae, apar ca zone luminoase care înconjoară celulele colorate.

Endosporii sunt văzuți ca ovale verzi în aceste celule în formă de tijă ale bacteriei Bacillus cereus, folosind colorația endosporului Schaeffer-Fulton.

Flage'la apar ca extensii ondulate de la capetele acestor celule ale bacteriei Spirillum volutans. În raport cu corpul celulei, lagelele sunt mult mai groase decât în mod normal, deoarece straturi de pete s-au acumulat în urma tratamentului specimenului cu un mordant.

[BJI Ce valoare au caosuleșul, endosporii și flagelii pentru bacterii?

TABEL 3.3 un rezumat al diferitelor pete și utilizările lor

Utilizări principale

Folosit pentru a evidenția microorganismele pentru a determina formele și aranjamentele celulare. Soluția apoasă sau alcoolică dintr-un singur colorant bazic colorează celulele. (Uneori se adaugă un mordant pentru a intensifica pata.)

Diferențial Folosit pentru a distinge diferite tipuri de bacterii.

;°ram Clasifică bacteriile în două grupe mari: gram-pozitive și gram-negative. Bacteriile Gram pozitive rețin

pata de violet cristal și par violet. Bacteriile Gram-negative nu Eol rețin pata de violet cristal; rămân incolore până la contrapătarea cu safranină și apoi apar roz.

Folosit pentru a distinge speciile de Mycobacterium și unele specii de Nocardia. Bacteriile acido-resistente, odata colorate cu carb.::'r rchsin si tratate cu acid-alcool, raman roz sau rosii deoarece retin pata de carbolfuchsin. Bacteriile non-acido-rezistente, atunci când sunt colorate și tratate în același mod și apoi colorate cu albastru de metilen, apar albastre deoarece pierd pata de carbolfuchsin și sunt apoi capabile să accepte pata de albastru de metilen.

SPECIALE Folosit pentru a colora și izola diferite structuri, cum ar fi capsule, endospori și flageli; folosit uneori ca a

ajutor de diagnostic.

Negativ Folosit pentru a demonstra prezența capsulelor. Deoarece capsulele nu acceptă majoritatea petelor, capsulele

apar ca halouri nepătate în jurul celulelor bacteriene și ies în evidență pe un fundal contrastant.

Endospore Folosit pentru a detecta prezența endosporilor în bacterii. Când verdele de malachit este aplicat pe un fixat termic

frotiu de celule bacteriene, pata pătrunde în endospori și îi colorează în verde. Atunci când se aplică apoi safranina (roșu), aceasta colorează restul celulelor cu roșu sau roz.

Flageha Folosit pentru a demonstra prezența flagelilor. Un mordant este folosit pentru a construi diametrele flagelilor până la

devin vizibile la microscop atunci când sunt colorate cu carbolfuchsin.

pata primara, se aplica pe un frotiu fixat la caldura si se incalzeste la abur timp de aproximativ 5 minute. „Căldura ajută petele să pătrundă în peretele endosporului. Apoi preparatul este spălat timp de aproximativ 30 de secunde cu apă pentru a îndepărta verdele de malachit din toate părţile celulelor, cu excepţia endosporilor. Apoi, pe frotiu se aplică safranină, o contrapătă, pentru a colora porţiuni ale celulei, altele decât endosporii. Într-un frotiu pregătit corespunzător, endosporii apar verzi în celulele roșii sau roz. Deoarece endosporii sunt foarte refractivi, ei pot fi detectați la microscopul luminos atunci când nu sunt colorați, dar fără o pată specială nu pot fi diferențiați de incluziunile de material depozitat.

Colorarea flagelilor

Flagelii bacterieni (singular: flagel) sunt structuri de locomoţie prea mici pentru a fi văzute cu un microscop cu lumină fără colorare. O procedură de colorare plictisitoare și delicată folosește un mordant și colorantul carbolfuchsin pentru a construi diametrele flagelilor până când devin vizibile la microscopul luminos (Figura 3.14c). Microbiologii folosesc numărul și aranjamentul flagelilor ca ajutoare de diagnostic. Colorarea animației

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum apar endosporii nepătati? Endospori pătați? 3-11 Un rezumat al petelor este prezentat în Tabelul 3.3. În capitolele următoare vom arunca o privire mai atentă asupra structurii microbilor și asupra modului în care aceștia se protejează, se hrănesc și se reproduc.

Caz clinic rezolvat

Deoarece este gram-negativ, H. pylori se colorează cu roz după aplicarea contracolorului. Rezultatele din laborator indică faptul că H. pylori este încă prezent în mucoasa stomacului lui Maryanne. Bănuind că bacteriile sunt rezistente la claritromicină, medicul lui Maryanne prescrie acum alte două antibiotice: tetraciclină și metronidazol. De data aceasta, simptomele lui Maryanne nu revin. În curând, se simte din nou ca vechiul ei sine și se întoarce la birou cu normă întreagă.

54 64 71

Schița de studiu

Masterin^MlCROBIOLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Unități de măsură (pag. 54)

Unitatea standard de lungime este metrul (m).

Microorganismele sunt măsurate în micrometri, pm (10-6 m) și în nanometri, nm (10 9 m).

Microscopie: Instrumentele (pag. 54-64)

Un microscop simplu constă dintr-o lentilă; un microscop compus are mai multe lentile.

Microscopie ușoară (PP-55-61)

Cel mai comun microscop folosit în microbiologie este

Mărirea totală a unui obiect se calculează înmulțind mărirea lentilei obiectiv cu mărirea lentilei oculare.

Microscopul cu lumină compusă folosește lumină vizibilă.

Rezoluția maximă sau puterea de rezoluție (abilitatea de a distinge două puncte) a unui microscop cu lumină compusă este de 0,2 pm; mărirea maximă este de 2000 X.

Specimenele sunt colorate pentru a crește diferența dintre indicii de refracție ai specimenului și ai mediului.

Uleiul de imersie este utilizat cu lentila de imersie în ulei pentru a reduce pierderea de lumină între diapozitiv și lentilă.

Iluminarea câmpului luminos este utilizată pentru frotiurile colorate.

Celulele necolorate sunt observate mai productiv folosind microscopie în câmp întunecat, contrast de fază sau DIC.

Microscopul câmpului întunecat arată o siluetă ușoară a unui organism pe un fundal întunecat.

Este cel mai util pentru detectarea prezenței unor organisme extrem de mici.

Un microscop cu contrast de fază aduce împreună razele de lumină directe și reflectate sau difractate (în fază) pentru a forma o imagine a specimenului pe lentila oculară.

Permite observarea detaliată a organismelor vii.

Microscopul DIC oferă o imagine tridimensională colorată a obiectului observat.

Permite observații detaliate ale celulelor vii.

În microscopia cu fluorescență, specimenele sunt mai întâi colorate cu fluorocromi și apoi vizualizate printr-un microscop compus folosind o sursă de lumină ultravioletă.

Microorganismele apar ca obiecte strălucitoare pe un fundal întunecat.

Microscopia cu fluorescență este utilizată în principal într-o procedură de diagnostic numită tehnică cu anticorpi fluorescenți (FA) sau imunofluorescență.

În microscopia confocală, un specimen este colorat cu un colorant fluorescent și iluminat cu lumină de lungime de undă scurtă.

Folosind un computer pentru a procesa imaginile, pot fi produse imagini bidimensionale și tridimensionale ale celulelor.

Microscopie cu doi fotoni (pag. 61)

În TPM, un specimen viu este colorat cu un colorant fluorescent și iluminat cu lumină cu lungime de undă lungă.

Microscopie acustică de scanare (pag. 61-62)

Microscopia acustică de scanare (SAM) se bazează pe interpretarea undelor sonore printr-un specimen.

Este folosit pentru a studia celulele vii atașate la suprafețe precum celulele canceroase, placa arterială și biofilmele.

Microscopia electronică (pag. 62-63)

În loc de lumină, se folosește un fascicul de electroni cu un electron

microscop.

În loc de lentile de sticlă, electromagneții controlează focalizarea, iluminarea și mărirea.

Secțiuni subțiri ale organismelor pot fi văzute într-un electronmucrograf produs cu ajutorul unui microscop electronic cu transmisie (Mărire: 10.000-100.000X. Putere de rezoluție: 10 pm.

Vizualizări tridimensionale ale suprafețelor microorganismelor întregi pot fi obținute cu un microscop electronic cu scanare (Mărire: 1000-10.000X. Rezoluție: 10 nm.

Microscopie cu sondă scanată (pag. 63-64)

Microscopia cu scanare tunel (STM) și microscopia cu forță atomică (AFM) produc imagini tridimensionale ale suprafeței unei molecule.

Pregătirea probelor

pentru microscopie ușoară (pag. 64-71)

Pregătirea frotiurilor pentru colorare (pag. 64-67)

Colorarea înseamnă colorarea unui microorganism cu un colorant pentru a face unele structuri mai vizibile.

Fixarea folosește căldură sau alcool pentru a ucide și a atașa microorganismele pe o lamă.

Un frotiu este o peliculă subțire de material utilizată pentru examinarea microscopică.

Bacteriile sunt încărcate negativ, iar ionul pozitiv colorat al unui colorant bazic va păta celulele bacteriene.

Ionul negativ colorat al unui colorant acid va pata fundalul unui frotiu bacterian; se produce o pată negativă.

Pete simple (pag. 67-68)

O pată simplă este o soluție apoasă sau alcoolică a unui singur colorant bazic. A Este folosit pentru a face vizibile formele și aranjamentele celulare.

Se poate folosi un mordant pentru a îmbunătăți legătura dintre pată și specimen.

Pete diferențiale (pag. 68-69)

Petele diferențiale, cum ar fi colorația Gram și colorația acido-rezistentă, diferențiază bacteriile în funcție de reacțiile lor la pete.

Procedura de colorare Gram folosește un colorant violet (violet crvstal), iod ca mordant, un decolorant cu alcool și o contrapătă roșie.

Bacteriile Gram-pozitive rețin pata violet după etapa de decolorare; bacteriile gram-negative nu apar și astfel apar roz din contrapată.

Microbii acido-rezistenți, cum ar fi membrii genurilor Mycobacterium și Nocardia, rețin carbolfuchsin după decolorarea acid-alcool și apar roșii; microbii non-acido-rezistenți preiau contrapata de albastru de metilen și apar albastru.

Pete speciale (pag. 69-71)

Colorarea negativă este utilizată pentru a face vizibile capsulele microbiene.

Colorația de endospori și colorația de flageli sunt pete speciale care sunt utilizate pentru a vizualiza structuri specifice în celulele bacteriene.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Completați următoarele spații libere. '

1 pm - m

1 = 10_9m

1 pm = nm

Ce tip de microscop ar fi cel mai bine de utilizat pentru a observa fiecare dintre următoarele?

un frotiu bacterian colorat

celule bacteriene necolorate: celulele sunt mici și niciun detaliu nu este

necesar .

țesut viu nepătat atunci când este de dorit să se vadă unele detalii intracelulare

o mostră care emite lumină atunci când este iluminată cu lumină ultravioletă

detaliu intracelular al unei celule care are 1 pm lungime

celule vii necolorate în care structurile intracelulare sunt prezentate în culoare

Etichetați părțile microscopului cu lumină compusă

în figura de mai jos, apoi desenați calea luminii de la iluminator la ochi.

Calculați mărirea totală a nucleului unei celule care este observată printr-un microscop cu lumină compusă cu o lentilă oculară de 10X și o lentilă cu imersie în ulei.

Mărirea maximă a unui microscop compus este

(a) ; cel al unui microscop electronic, (b) .

Rezoluția maximă a unui microscop compus este

(c) ; cel al unui microscop electronic, (d) .

Un avantaj al unui microscop electronic cu scanare față de un microscop electronic cu transmisie este (e) .

De ce se folosește un mordant în colorația Gram? În pata de flageli?

Care este scopul unei contrapături în pata acido-rezistentă?

Care este scopul unui decolorant în pata Gram? În pata acid-rezistentă?

Completați următorul tabel referitor la colorația Gram:

elefant, a fost uns pe un tobogan și uscat la aer. Frotiul a fost fixat, acoperit cu carbolfuchsin și încălzit timp de 5 minute. După spălare cu apă, acid-alcool a fost plasat pe frotiu timp de 30 de secunde. În cele din urmă, frotiu a fost colorat cu albastru de metilen timp de 30 de secunde, spălat cu apă și uscat. La examinare la 1000X, medicul veterinar de la grădina zoologică a văzut tije roșii pe tobogan. (Calle a fost tratată și recuperată.) Ce microbi sugerează aceste rezultate?

Alegere Multiplă

Să presupunem că colorați Bacillus aplicând verde malachit cu căldură și apoi colorați cu safranină. Prin microscop, structurile verzi sunt

pereții celulari. .

capsule.

endospori.

flageli.

imposibil de identificat.

Imagini tridimensionale ale celulelor vii pot fi produse cu

microscopie în câmp întunecat.

microscopie cu fluorescență.

microscopia electronică cu transmisie.

microscopie confocală.

microscopie cu contrast de fază.

Carbolfuchsin poate fi folosit ca colorant simplu și ca colorant negativ.

Ca o simplă pată, pH-ul este

2.

mai mare decât pata negativă.

mai jos decât pata negativă.

la fel ca și pata negativă.

Privind la celula unui microorganism fotosintetic, observați că cloroplastele sunt verzi în microscopia în câmp luminos și roșii în microscopia cu fluorescență. Tragi că

clorofila este fluorescentă.

mărirea a distorsionat imaginea.

nu te uiți la aceeași structură în ambele microscoape.

pata a mascat culoarea verde.

nici una dintre cele de mai sus

Care dintre următoarele nu este o pereche de pete similare din punct de vedere funcțional?

nigrosin și verde de malachit

cristal violet și carbolfuchsin

safranina si albastrul de metilen

etanol-acetonă și acid-alcool

nici una dintre cele de mai sus

Care dintre următoarele perechi este nepotrivită?

capsula—colorare negativă

aranjare celulară — colorare simplă

dimensiunea celulei—colorare negativă

Colorație Gram - identificare bacteriană

nici una dintre cele de mai sus

Să presupunem că colorați Clostridium prin aplicarea unei pate de bază,

carbolfuchsin, cu căldură, decolorare cu acid-alcool și contracolorare cu o pată acidă, nigrosin. Prin microscop, endosporii sunt 1 , iar celulele sunt

pătat 2 .

1—roșu; 2—negru

1—negru; 2—incolor

1—incolor; 2—negru

1—roșu; 2—incolor

1—negru; 2—roșu

Să presupunem că vizualizați un câmp colorat cu Gram de coci roșii și bacili albaștri prin microscop. Puteți concluziona în siguranță că aveți

a făcut o greșeală la colorare.

două specii diferite.

celule bacteriene vechi.

celule bacteriene tinere.

nici una dintre cele de mai sus

În 1996, oamenii de știință au descris un nou parazit tenia care a ucis cel puțin o persoană. Examinarea inițială a masei abdominale a pacientului a fost făcută cel mai probabil folosind

microscopie în câmp luminos.

microscopie în câmp întunecat.

microscopia electronică.

microscopie cu contrast de fază.

microscopie cu fluorescență.

Care dintre următoarele nu este o modificare a unui microscop cu lumină compusă?

microscopie în câmp luminos

microscopie în câmp întunecat

microscopia electronică

microscopie cu contrast de fază

microscopie cu fluorescență

Gândire critică

Într-o colorație Gram, un pas ar putea fi omis și permite totuși diferențierea între celulele gram-pozitive și gram-negative. Care este acel singur pas?

Folosind un microscop cu lumină compus bun, cu o putere de rezoluție de ~ 0,3 pm, o lentilă oculară 10X și o lentilă cu imersie în ulei de 100X,

ai fi capabil să discerne două obiecte separate de 15:00? 0.3 seara? 300 nm?

De ce nu se folosește colorația Gram pe bacteriile acido-resistente: Dacă ați colora bacteriile Gram rezistente la acid, care ar fi reacția Gram: Care este reacția Gram a bacteriilor non-acido-resistente?

Endosporii pot fi văzuți ca structuri refractile în celulele necolorate și ca zone incolore în celulele colorate Gram. De ce este necesar să se facă o colorare de endospori pentru a verifica prezența endosporilor?

Aplicații clinice

În 1882, bacteriologul german Paul Erhlich a descris o metodă de colorare a Mycobacterium și a remarcat: „Este posibil ca toți agenții de dezinfectare care sunt acizi să nu aibă efect asupra acestui bacil [tuberculului], iar unul va trebui să se limiteze la agenți alcalini.” Cum a ajuns la această concluzie fără a testa dezinfectanții?

Diagnosticul de laborator al infecției cu Neisseria gonorrhoeae se bazează pe examinarea microscopică a puroiului colorat cu Gram. Localizați bacteriile în această micrografie cu lumină. Care este boala?

Să presupunem că vizionați o probă colorată cu Gram de scurgeri vaginale. Celulele roșii mari (10 pm j nucleate sunt acoperite cu celule albastre mici (0,5 pm lățime pe 1,5 pm lungime) pe suprafețele lor. Care este explicația cea mai probabilă pentru celulele roșii și albastre?

Anatomia funcțională a procariotei și

Celulele eucariote

D

în ciuda complexității și varietății lor, toate celulele vii pot fi clasificate în două grupe, procariote și eucariote, pe baza anumitor caracteristici structurale și funcționale. În general, procariotele sunt structural mai simple și mai mici decât eucariotele. ADN-ul (materialul

genetic) al procariotelor este de obicei un singur cromozom dispus circular și nu este înconjurat de o membrană; ADN-ul eucariotelor se găsește în mai mulți cromozomi dintr-un nucleu închis de membrană. Procariotele nu au organele închise în membrană, structuri specializate care desfășoară diverse activități.

Plantele și animalele sunt compuse în întregime din celule eucariote. În lumea microbiană, bacteriile și arheile sunt procariote. Alți microbi celulari - ciuperci (drojdii și mucegaiuri), protozoare și alge - sunt eucariote. Atât celulele eucariote, cât și cele procariote pot avea în jurul lor un glicocalix lipicios. În natură, majoritatea bacteriilor se găsesc lipite de suprafețe solide, inclusiv de alte celule, mai degrabă decât de plutire liberă. Glicocalixul este lipiciul care ține celulele în loc. Bacteriile Serratia din fotografie sunt atașate de plastic; glicocalixul lipicios s-a uscat în filamente în timpul examinării microscopice. Un exemplu de problemă pusă de biofilmele în rezervele de apă ale spitalelor este descris în Cazul Clinic.

Compararea celulelor procariote și eucariote: o prezentare generală

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-1 Comparați și comparați structura celulară globală a procariotelor și eucariotelor.

Procariotele și eucariotele sunt similare din punct de vedere chimic, în sensul că ambele conțin acizi nucleici, proteine, lipide și carbohidrați. Ei folosesc aceleași tipuri de reacții chimice pentru a metaboliza alimentele, pentru a construi proteine și pentru a stoca energie. În primul rând, structura pereților celulari și a membranelor și absența organelelor (structuri celulare specializate care au funcții specifice) sunt cele care disting procariotele de eucariote.

Principalele caracteristici distinctive ale procariotelor (din cuvintele grecești care înseamnă prenucleu) sunt următoarele:

Caz clinic: Detectarea infectiei

Irene Matthews, o asistentă pentru controlul infecțiilor într-un spital din Atlanta, Georgia, se află într-o dilemă. Trei pacienți din spitalul ei au contractat septicemie bacteriană după procedură. Toți trei au febră și tensiune arterială scăzută periculos. Acești trei pacienți sunt în zone separate ale spitalului, în unități diferite și toți au suferit proceduri diferite. Primul pacient, Joe, un muncitor în construcții în vârstă de 32 de ani, se recuperează după o intervenție chirurgicală la coafa rotatorilor. El este într-o stare de sănătate relativ bună, în rest. Al doilea pacient, Jessie, o studentă de 16 ani la terapie intensivă, este în stare critică în urma unui accident de mașină. Ea este pe un ventilator și nu poate respira singură. Cel de-al treilea pacient, Maureen, o bunică în vârstă de 57 de ani, se recuperează după o intervenție chirurgicală de bypass coronarian. Din câte poate spune Irene, singurul lucru pe care acești pacienți îl au în comun este agentul infecțios – Klebsiella pneumoniae.

Cum pot contracta Klebsiella pneumoniae trei pacienți din diferite părți ale unui spital? Citiți mai departe pentru a afla.

ADN-ul lor nu este închis într-o membrană și este de obicei un cromozom singular aranjat circular. (Unele bacterii, cum ar fi Vibrio cholerae, au două cromosc ne, iar unele bacterii au o crom aranjată liniar.)

ADN-ul lor nu este asociat cu histonele (proteine cromozomiale speciale care se găsesc la eucariote); alte proteine sunt asociate cu ADN-ul.

Le lipsesc organele închise în membrană.

Pereții lor celulari conțin aproape întotdeauna complexul peptidoglican polizaharid.

De obicei, se împart prin fisiune binară. În timpul acestui proces, ADN-ul este copiat, iar celula se împarte în două celule. Fisiunea binară implică mai puține structuri și procese decât diviziunea celulară eucariotă.

Eucariotele (din cuvintele grecești care înseamnă nucleu adevărat) au următoarele caracteristici distinctive:

ADN-ul lor se găsește în nucleul celulei, care este separat de citoplasmă printr-o membrană nucleară, iar ADN-ul se găsește în mai mulți cromozomi.

ADN-ul lor este asociat în mod constant cu proteine cromozomiale numite histone și cu nonhistone.

Au o serie de organele închise în membrană, inclusiv mitocondrii, reticul endoplasmatic, complex Golgi, lizozomi și uneori cloroplaste.

Pereții lor celulari, atunci când sunt prezenti, sunt simpli din punct de vedere chimic.

Diviziunea celulară implică de obicei mitoză, în care cromozomii se replic și un set identic este distribuit în fiecare dintre cei doi nuclei. Acest proces este ghidat de fusul mitotic, un ansamblu de microtubuli în formă de fotbal. Urmează divizarea citoplasmei și a altor organite astfel încât cele două celule produse să fie identice una cu cealaltă.

Diferențele suplimentare dintre celulele procariote și eucariote sunt enumerate în Tabelul 4.2, pagina 100. În continuare, descriem, în detaliu, părțile celulei procariote.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care este principala caracteristică care diferențiază procariotele de eucariote? 4-1

Celula Procayotică

Membrii lumii procariote alcătuiesc un vast grup eterogen de organisme unicelulare foarte mici. Procariotele includ bacteriile și arheile. Majoritatea procariotelor, inclusiv cianobacteriile de fotosinteză, sunt bacterii. Deși bacteriile și arheile arată similar, compoziția lor chimică este diferită, așa cum va fi descris mai târziu. Miile de specii de bacterii sunt diferențiate de mulți factori, inclusiv morfologie (formă), compoziție chimică (deseori detectată prin reacții de colorare), cerințe nutriționale, activități biochimice și surse de energie (lumina solară sau substanțe chimice). Se estimează că 99% din bacteriile din natură există în biofilme (vezi pauzele 56 și 160).

(a) Bacil unic

(d)

Figura 4.1 Aranjamentele cocilor, (a) Diviziunea într-un plan produce diplococi și streptococi, (b) Diviziunea în două planuri produce tetrade, (c) Diviziunea în trei planuri produce sarcine și (d) diviziunea în mai multe planuri produce stafilococi.

(b) Diplobacii

de celule?

Planurile de diviziune determină aranjamentul

Dimensiunea, forma și aranjarea celulelor bacteriene

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-2 Identificați cele trei forme de bază ale bacteriilor.

Bacteriile vin într-o mulțime de dimensiuni și mai multe forme. Majoritatea bacteriilor variază de la 0,2 la 2,0 pm în diametru și de la 2 la 8 pm în lungime. Au câteva forme de bază: coccus sferic (plural: coci, adică fructe de pădure), bacil în formă de tijă (plural: bacili, adică mici toiag) și spirală.

(d)

Cocobacillus

De ce nu formează bacilii tetrade

eu ora 14.00

Figura 4.2 Bacili, (a) Bacili unici, (b) Diplobacii. În micrografia de sus, câteva perechi unite de bacili ar putea servi drept exemple de diplobacii. (c) Streptobacili. (d) Coccobacilii.

sau clustere?

Cocii sunt de obicei rotunzi, dar pot fi ovali, alungiți sau turtiți pe o parte. Când cocii se divid pentru a se reproduce, celulele pot rămâne atașate una de alta. Cocii care rămân în perechi după divizarea se numesc diplococi; cei care se divid și rămân atașați în modele în lanț se numesc streptococi (Figura 4.1 a). Cele care se împart în două planuri și rămân în grupuri de patru sunt cunoscute ca tetrade (Figura 4.1b). Cele care se împart în trei planuri și rămân atașate în grupuri de opt cuburi se numesc sarcine (Figura 4.1c). Cei care se împart în mai multe planuri și formează ciorchini ca struguri sau foi largi se numesc stafilococi (Figura 4.1 d). Aceste caracteristici de grup sunt frecvent utile în identificarea anumitor coci.

Bacilii se împart numai pe axa lor scurtă, astfel încât există mai puține grupări de bacili decât de coci. Majoritatea bacililor apar ca bastonașe simple, numite bacili unici. (Figura 4.2a). Diplobacii apar în perechi după diviziune (Figura 4.2b), iar streptobacilii apar în lanțuri (Figura 4.2c). Unii bacili arată ca niște paie. Altele au capete conice, precum trabucurile. Alții sunt ovale și seamănă atât de mult cu cocii încât se numesc coccobacilii (Figura 4.2d).

Figura 4.3 Un helix dublu catenar format din Bacillus subtilis.

Care este diferența dintre termen

bacil și bacil?

„Bacil" are două semnificații în microbiologie. Așa cum tocmai l-am folosit, bacilul se referă la o formă bacteriană. Când este scris cu majuscule și italice, se referă la un anumit gen. De exemplu, bacteria Bacillus anthracis este agentul cauzal al antraxului. Celulele bacilului formează adesea lanțuri de celule lungi și răsucite (Figura 4.3).

Bacteriile spiralate au una sau mai multe răsuciri; nu sunt niciodată drepte. Bacteriile care arată ca niște tije curbate se numesc vibrioni (Figura 4.4a). Altele, numite spirilla, au o formă elicoidală, ca un tirbușon, și corpuri destul de rigide (Figura 4.4b). Un alt grup de spirale sunt elicoidale și flexibile; se numesc spirochete (Figura 4.4c). Spre deosebire de spirilla, care utilizează apendice externe asemănătoare elicei numite flageli pentru a se deplasa, spirochetele se mișcă prin intermediul filamentelor axiale, care seamănă cu flagelii, dar sunt conținute într-o înveliș extern flexibil.

Pe lângă cele trei forme de bază, există celule în formă de stea (genul Stella; Figura 4.5a); celule dreptunghiulare, plate (arhaea halofile) din genul Haloarcula (Figura 4.5b); și celule triunghiulare.

Forma unei bacterii este determinată de ereditate. Din punct de vedere genetic, majoritatea bacteriilor sunt monomorfe; adică mențin o singură formă. Cu toate acestea, o serie de condiții de mediu pot modifica această formă. Dacă forma este modificată, identificarea devine dificilă. Mai mult, unele bacterii, precum Rhizobium (ri-zd'be-um) și Corynebacterium (kd-ri-ne-bak-ti're-um), sunt genetic pleomorfe, ceea ce înseamnă că pot avea mai multe forme, nu doar una.

Structura rlhc a unei celule procariote tipice este prezentată în Figura 4.6. Vom discuta componentele sale în conformitate cu următoarea organizare: (1) structuri externe peretelui celular, (2) peretele celular însuși și (3) structuri interne peretelui celular.

(a) Bacteriile în formă de stea

(Wi 1 0,5/jm 1

(a) Vibrio

Figura 4.4 Bacterii spiralate, (a) Vibrios, (b) Spirillum, (c) Spirochete.

£9 Care este caracteristica distinctivă a bacteriilor spirochete?

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum ați putea identifica streptococii printr-un microscop? 4-2

Structuri externe peretelui celular

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

4-3 Descrieți structura și funcția glicocalixului

4-4 Diferențierea flagelilor, filamentelor axiale, fimbriilor și piliului.

Printre structurile posibile externe peretelui celular procariot se numără glicocalixul, flagelii, filamentele axiale, fimbriile și pilii.

Figura 4.5 Procariote în formă de stea și dreptunghiulare, (a) Stella (în formă de stea).

(b) Haioarcula, un gen de arhei halofile (celule dreptunghiulare).

(b) Bacteriile dreptunghiulare lol o.5 nm

Ce

sunt formele bacteriene comune?

uclura unei celule procariote

Ribozomi 70S

Membrana plasmatica

ADN care conține nucleoid

Incluziuni

TEM

Capsulă

Peretele celular

Plasmă/membrană

<3 -

Q' '

o □ o

»Q a

° <OQ ok ° **

\ X '/

Plasmidă

0.5 seara

OO ® '7'a , fiw i ftti

,® -MF

Fimbriae

Rotația flagelilor bacterieni propulsează celula printr-un mediu apos.

CONCEPTE-CHEIE

Această celulă procariotă prezintă structuri tipice care pot fi găsite în bacterii. Celulele procariote nu au organele închise în membrană. Toate bacteriile conțin citoplasmă, ribozomi, o membrană plasmatică și un nucleoid. Aproape toate bacteriile au pereți celulari.

Unele structuri joacă roluri specifice, de exemplu: în virulența bacteriană (capsula), J în identificarea bacteriană (peretele celular sau flagelul) și în țintele agenților antimicrobieni (peretele celular).

Plasmidele codifică informații precum genele de rezistență la antibiotice sau producția de toxine. Plasmidele pot fi schimbate între bacterii.

Figura 4.7 Aranjamentele flagelilor bacterieni, (a) Peritric, (b)-- (d) Polar.

(d) Amfitric și polar

la pm

SEM

Nu toate celulele procariote au flageli. Cum se numesc bacteriile fără flageli?

Glicocalix

Multe procariote secretă pe suprafața lor o substanță numită glicocalix. Glycocalyx (înveliș de zahăr) este termenul general folosit pentru substanțele care înconjoară celulele. Glicocalixul bacterian este un polimer gelatinos vâscos (lipicios), care este extern peretelui celular și este compus din polizaharidă, polipeptidă sau ambele. Compoziția sa chimică variază foarte mult în funcție de specie. În cea mai mare parte, este produs în interiorul celulei și secretat la suprafața celulei. Dacă substanța este organizată și este ferm atașată de peretele celular, glicocalixul este descris ca o capsulă. „Prezența unei capsule poate fi determinată prin utilizarea colorației negative, descrisă în Capitolul 3 (vezi Figura 3.14a, pagina 70). Dacă substanța este neorganizată și atașată doar slab de peretele celular, glicocalixul este descris ca un strat de slime.

La anumite specii, capsulele sunt importante pentru a contribui la virulența bacteriană (gradul în care un agent patogen provoacă boală). Capsulele protejează adesea bacteriile patogene de fagocitoza de către celulele gazdei. (După cum veți vedea mai târziu, fagocitoza este ingestia și digestia microorganismelor și a altor particule solide.) De exemplu, Bacillus anthracis produce o capsulă de acid D-glutamic. (Reamintim din capitolul 2 că formele d de aminoacizi sunt neobișnuite.) Deoarece numai B. anthracis încapsulat provoacă antrax, se speculează că capsula poate preveni distrugerea ei prin fagocitoză.

Un alt exemplu implică Streptococcus pneumoniae (strepto-to-kok'kus nu-mo'ne-i), care provoacă pneumonie numai atunci când celulele sunt protejate de o capsulă polizaharidă. Celulele neîncapsulate de S. pneumoniae nu pot provoca pneumonie și sunt ușor fagocitate. Capsula polizaharidă a Klebsiella (kleb-se-elTa) previne, de asemenea, fagocitoza și permite bacteriei să adere și să colonizeze tractul respirator.

„Glicocalixul este o componentă foarte importantă a biofilmelor (vezi pagina 160). Un glicocalix care ajută celulele dintr-un biofilm să se atașeze de mediul lor țintă și unele de altele se numește substanță polimerică extracelulară (EPS). EPS protejează celulele din interiorul său, facilitează comunicarea între ele și permite celulelor să supraviețuiască prin atașarea la diferite suprafețe din mediul lor natural.

Prin atașare, bacteriile se pot dezvolta pe diverse suprafețe, cum ar fi roci în fluxuri cu mișcare rapidă, rădăcini de plante, dinți umani, - implanturi medicale, conducte de apă și chiar alte bacterii. Streptococcus mutans (mutans), o cauză importantă a cariilor dentare, se atașează de suprafața dinților printr-un glicocalice. S. mutans își poate folosi capsula ca sursă de nutriție prin descompunerea acesteia și utilizarea zaharurilor atunci când rezervele de energie sunt scăzute. Vibrio chol-' erae (vib -re-o koi -er-i), cauza holerei, produce un glicocalix care îl ajută să se atașeze de celulele intestinului subțire. Un glicocalix poate proteja, de asemenea, o celulă împotriva deshidratării, iar vâscozitatea acestuia poate inhiba mișcarea nutrienților din celulă.

(a) Părți și atașarea unui flagel al unei bacterii gram-negative

Figura 4.8 Structura unui flagel procariot. Părțile și atașarea unui flagel al unei bacterii qram-negative și al unei bacterii gram-pozitive sunt prezentate în aceste diagrame foarte schematice.

(b) Părți și atașarea unui flagel al unei bacterii gram-pozitive

Cum diferă corpurile bazale ale bacteriilor gram-negative și gram-pozitive?

Flagelii

Unele celule procariote au flageli (singular: flagel), care sunt anexe filamentoase lungi care propulsează bacteriile. Bacteriile care nu au flageli sunt denumite atrihos (fără proiecții). Flagelii pot fi peritric (distribuiți pe întreaga celulă; Figura 4.7a) sau polari (la unul sau ambii poli sau capete ale celulei). Dacă sunt polari, flagelii pot fi monotric (un singur flagel la un pol; Figura 4.7b), lofotric (un smoc de flagel care provine de la un pol; Figura 4.7c) sau amfitric (flagel la ambii poli ai celulei; Figura 4.7d).

Un flagel are trei părți de bază (Figura 4.8). Regiunea exterioară lungă, filamentul, are un diametru constant și conține fiagelina proteică globulară (aproximativ sferică) dispusă în mai multe lanțuri care se împletesc și formează o spirală în jurul unui miez gol. La majoritatea bacteriilor, filamentele nu sunt acoperite de o membrană sau înveliș, ca în celulele eucariote. Filamentul este atașat de un cârlig puțin mai lat, constând dintr-o proteină diferită. A treia porțiune a unui flagel este corpul bazal, care ancorează flagelul de peretele celular și membrana plasmatică.

Corpul bazal este compus dintr-o tijă centrală mică introdusă într-o serie de inele. Bacteriile Gram-negative conțin două perechi de inele; perechea exterioară de inele este ancorată de diferite porțiuni ale peretelui celular, iar perechea interioară de inele este ancorată de membrana plasmatică. În bacteriile gram-pozitive, este prezentă doar perechea interioară. După cum veți vedea mai târziu, flagelii (și cilii) celulelor eucariote sunt mai complexe decât cele ale celulelor procariote.

Fiecare flagel procariot este o structură semirigidă, elicoidală, care mișcă celula prin rotire din corpul bazal. Rotația unui flagel este fie în sensul acelor de ceasornic, fie în sens invers acelor de ceasornic în jurul axei sale lungi. (Flagelii eucarioți, dimpotrivă, se ondula într-o mișcare ondulatorie.) Mișcarea unui flagel procariot rezultă din rotația corpului său bazal și este similară cu mișcarea arborelui unui motor electric. Pe măsură ce flagelii se rotesc, formează un mănunchi care împinge lichidul din jur și propulsează bacteria. Rotația flagelară depinde de generarea continuă de energie a celulei.

Celulele bacteriene pot modifica viteza și direcția de rotație a flagelilor și astfel sunt capabile de diferite modele de motilitate, capacitatea unui organism de a se mișca de la sine. Când o bacterie se mișcă într-o direcție pentru o perioadă de timp, mișcarea se numește „alergare” sau „înotare.1’ „Alergarile” sunt întrerupte de schimbări periodice, bruște, aleatorii ale direcției numite „turburări”. Apoi, o „curătură” se reia, „„fumble” sunt cauzate de o inversare a rotației flagelare (Figura 4.9a) Unele specii de bacterii înzestrate cu mulți flageli – Proteus (pro’te-us), de exemplu (Figura 4.9b) – pot roi” sau pot prezenta o mișcare rapidă sub formă de undă pe un mediu de cultură solid.

Figura 4.9 Flagelii și motilitatea bacteriană.

Flagelele bacteriene împing sau trage o celulă?

Un avantaj al motilității este că permite unei bacterii să se deplaseze către un mediu favorabil sau să se îndepărteze de unul advers. Mișcarea unei bacterii către sau departe de un anumit stimul se numește taxiuri. Astfel de stimuli includ substanțe chimice (chemotaxie) și lumină (fototaxie). Bacteriile mobile conțin receptori în diferite locații, cum ar fi în sau chiar sub peretele celular. „Acești receptori preiau stimuli chimici, cum ar fi oxigenul, riboza și galactoza. Ca răspuns la stimuli, informația este transmisă flagelilor. Dacă semnalul chemotactic este pozitiv, numit atractant, bacteriile se deplasează spre stimul cu multe alergări și puține răsturnări. Dacă semnalul chimiotactic este negativ, numit repulsiv, frecvența răsturnărilor crește pe măsură ce bacteriile se îndepărtează de stimul.

„Proteina flagelară numită antigen H este utilă pentru a distinge serovariile, sau variațiile în cadrul unei specii, ale bacteriilor gram-negative (vezi pagina 310). De exemplu, există cel puțin 50 de antigeni H diferiți pentru E. coli. Acele serovare identificate ca E. coli O157:H7 sunt asociate cu epidemiile alimentare (vezi Capitolul 1, pagina 19). (mm)' Motilitatea animațiilor; Flageli: structură, mișcare, aranjare

Filamente axiale

Spirochetele sunt un grup de bacterii care au o structură și motilitate unice. Una dintre cele mai cunoscute spirochete este Treponema pallidum (tre-po-ne'ma palTi-dum), agentul cauzal al sifilisului. Un alt spirochet este Borrelia burgdorferi (bor'-rel-ea burg-dor'fer-e), agentul cauzal al bolii Lyme. Spirochetele se mișcă prin intermediul filamentelor axiale, sau endoflagelelor, fascicule de fibrile care apar la capetele celulei sub o teacă exterioară și spiralează în jurul celulei (Figura 4.10).

Filamentele axiale, care sunt ancorate la un capăt al spirochetei, au o structură similară cu cea a flagelilor. Rotirea filamentelor produce o mișcare a tecii exterioare care propulsează spirochetele într-o mișcare în spirală. Acest tip de mișcare este similar modului în care un tirbușon se mișcă printr-un dop, această mișcare a tirbușonului permite probabil unei bacterii precum T. pallidum să se miște eficient prin fluidele corporale, (mm)' Spirochete de animație

Fimbriae și Pili

Multe bacterii gram-negative conțin anexe asemănătoare părului, care sunt mai scurte, mai drepte și mai subțiri decât flagelele și sunt folosite pentru atașarea și transferul ADN-ului mai degrabă decât pentru motilitate. Aceste structuri, care constau dintr-o proteină numită p/Z/'n aranjate belies <Ly în jurul unui nucleu central, sunt împărțite în două tipuri, fimbriae și pili, având funcții foarte diferite. (Unii microbiologi folosesc cei doi termeni în mod interschimbabil pentru a se referi la toate astfel de structuri, dar facem distincție între ele.)

Fimbriae (singular: fimbria) pot apărea la polii bacteriei: celulă sau pot fi distribuite uniform pe întreaga suprafață a tavanului. ! hey poate număra oriunde de la câteva la mai multe

(b) O diagramă a filamentelor axiale care se înfășoară în jurul unei părți a unei spirochete (vezi Figura 11.26a pentru o secțiune transversală a filamentelor axiale)

o sută pe celulă (Figura 4.11). Fimbriile au tendința de a adera între ele și de suprafețe. Ca urmare, ei sunt implicați în formarea de biofilme și alte agregări pe suprafețele lichidelor, sticlei și rocilor. Fimbriae poate ajuta, de asemenea, bacteriile să adere la suprafețele epiteliale din organism. De exemplu, fimbriile de pe bacteria Neisseria gonorrhoeae (ni-se're-a go-nor-re'i), agentul cauzal al gonoreei, ajută microbul să colonizeze membranele mucoase. Odată ce are loc colonizarea, bacteriile pot provoca boli. Fimbriile de E. coli 0157 permit acestei bacterii să adere la mucoasa intestinului subțire, unde provoacă o diaree apoasă severă. Când fimbriile sunt absente (din cauza mutației genetice), colonizarea nu poate avea loc și nu apare nicio boală.

Pili (singular: pilus) sunt de obicei mai lungi decât fimbriile și numără doar unul sau doi pe celulă. Pili sunt implicați în motilitate și transferul ADN. Într-un tip de motilitate, numit motilitate de zgomot, un pilus se extinde prin adăugarea de subunități de pilin, face contact cu o suprafață sau cu o altă celulă și apoi se retrage (powerstroke) pe măsură ce subunitățile pilin sunt dezasamblate. Acesta se numește modelul cârligului de grappling al motilității de zvâcnire și are ca rezultat mișcări scurte, sacadate, intermitente. S-a observat motilitate tremurătoare la Pseudomonas aeruginosa, Neisseria gonorrhoeae și unele tulpini de E. coli. Celălalt tip de motilitate asociat cu pili este mobilitatea de alunecare, mișcarea lină de alunecare a

mixobacterii. Deși mecanismul exact este necunoscut pentru majoritatea mixobacteriilor, unele folosesc retragerea pilusului. Motilitatea de alunecare oferă microbilor un mijloc de a călători în medii cu un conținut scăzut de apă, cum ar fi biofilmele și solul.

Figura 4.11 Fimbriae. Fimbriile par să se încremenească din această celulă E co//, care începe să se dividă.

Unii pili sunt folosiți pentru a aduce bacterii împreună, permițând transferul ADN-ului de la o celulă la alta, un proces numit conjugare. Astfel de pili se numesc pili de conjugare (sex) (vezi pagina 234). În acest proces, pilusul de conjugare a unei bacterii numită celulă F+ se conectează la receptorii de pe suprafața unei alte bacterii din propria specie sau dintr-o specie diferită. Cele două celule fac contact fizic, iar ADN-ul din celula F j este transferat către cealaltă celulă. ADN-ul schimbat poate adăuga o nouă funcție celulei primitoare, cum ar fi rezistența la antibiotice sau capacitatea de a-și digera mediul mai eficient. .

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce sunt importante din punct de vedere medical capsulele bacteriene? 4-3

Cum se mișcă bacteriile? 4-4

Peretele celular

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

4-5 Comparați și comparați pereții celulari ai bacteriilor gram-pozitive, bacteriilor gramnegative, bacteriilor acido-rezistente, arheilor și micoplasmelor.

4-6 Comparați și contrastați arheile și micoplasmele.

4-7 Diferențiați forma protoplastă, sferoplastă și L.

Peretele celular al celulei bacteriene este o structură complexă, semirigidă, responsabilă de forma celulei. Peretele celular înconjoară membrana plasmatică fragilă (citoplasmatică) subiacentă și o protejează pe aceasta și interiorul celulei de schimbările adverse din mediul exterior (vezi Figura 4.6). Aproape toate procariotele au pereți celulari.

Funcția principală a peretelui celular este de a preveni ruperea celulelor bacteriene atunci când presiunea apei din interiorul celulei este mai mare decât cea din afara celulei (vezi Figura 4.18d, pagina 92). De asemenea, ajută la menținerea formei unei bacterii și servește ca punct de ancorare pentru flageli. Pe măsură ce volumul unei celule bacteriene crește, membrana plasmatică și peretele celular se extind după cum este necesar. Din punct de vedere clinic, peretele celular este important deoarece contribuie la capacitatea unor specii de a provoca boli și este locul de acțiune al unor antibiotice. În plus, compoziția chimică a peretelui celular este utilizată pentru a diferenția tipurile majore de bacterii.

Deși celulele unor eucariote, inclusiv plantele, algele și ciupercile, au pereți celulari, pereții lor diferă din punct de vedere chimic de cei ai procariotelor, sunt mai simpli ca structură și sunt mai puțin rigizi.

Compoziție și caracteristici

Peretele celular bacterian este compus dintr-o rețea macromoleculară numită peptidoglican (cunoscut și ca mureină), care este prezentă fie singură, fie în combinație cu alte substanțe. Peptidoglicanul constă dintr-o dizaharidă repetată atașată de polipeptide pentru a forma o rețea care înconjoară și protejează întreaga celulă. Porțiunea de dizaharidă este formată din monozaharide numite N-acetilglucozamină (NAG) și acid N-acetilmuramic (NAM) (din murus, adică perete), care sunt legate de

[®Jj| Ce fel de molecule sunt acestea: carbohidrați, lipide sau proteine?

glucoză. Formulele structurale pentru NAG și NAM sunt prezentate în Figura 4.12.

Diferitele componente ale peptidoglicanului sunt asamblate în peretele celular (Figura 4.13a). Moleculele NAM și NAG alternative sunt legate în rânduri de 10 până la 65 de zaharuri pentru a forma o „coloană vertebrală” de carbohidrați (porțiunea de glican a peptidoglicanului). Rândurile adiacente sunt legate prin polipeptide (porțiunea peptidică a peptidoglicanului). Deși structura legăturii polipeptidice variază, aceasta include întotdeauna lanțuri laterale tetrapeptidice, care constau din patru aminoacizi atașați la NAM-uri în coloana vertebrală. Aminoacizii apar într-un model alternant de forme d și l (vezi Figura 2.13, pagina 43). Acest lucru este unic deoarece aminoacizii găsiți în alte proteine sunt forme l. Lanțurile laterale tetrapeptidice paralele pot fi legate direct între ele sau legate printr-o punte încrucișată a peptidei et, constând dintr-un lanț scurt de aminoacizi.

Penicilina interferează cu legarea finală a rândurilor de peptidoglicani prin punți încrucișate peptidice (vezi Figura 4.13a). Ca urmare, peretele celular este foarte slăbit și celula suferă liză, distrugere cauzată de ruperea membranei plasmatice și pierderea citoplasmei.

Pereții celulari Gram-pozitivi

La majoritatea bacteriilor gram-pozitive, peretele celular este format din multe straturi de peptidoglican, formând o structură groasă, rigidă (Figura 4.13b). În schimb, pereții celulari gram-negativi conțin doar un strat subțire de peptidoglican (Figura 4.13c).

În plus, pereții celulari ai bacteriilor cu cereale pozitive conțin acizi teicoici, care constau în principal dintr-un alcool (cum ar fi glicerol sau ribitol) și fosfat. Există două clase de acizi teicoici: acidul li-poteicoic, care se întinde pe stratul de peptidoglican și este legat

Frecvența punților încrucișate peptidice și numărul de aminoacizi din aceste punți variază în funcție de speciile de bacterii. Săgețile mici indică unde penicilina interferează cu

legătura rândurilor de peptidoglicani prin punți încrucișate peptidice, (b) Un perete celular gram-pozitiv.

(c) Un perete celular gram-negativ.

Care sunt diferențele structurale majore dintre pereții celulari gram-pozitivi și gram-negativi?

membrana plasmatică și acidul teicoic de perete, care este legat de stratul de peptidoglican. Datorită încărcăturii lor negative (din grupele fosfat), acizii teicoici se pot lega și regla mișcarea cationilor (ioni pozitivi) în și în afara celulei. Ele pot, de asemenea, să-și asume un rol în creșterea celulelor, prevenind defalcarea extinsă a peretelui și posibila liză celulară. În cele din urmă, acizii teicoici oferă o mare parte din specificitatea antigenică a peretelui și fac astfel posibilă identificarea bacteriilor gram-pozitive prin anumite teste de laborator (vezi capitolul 10). În mod similar, pereții celulari ai streptococilor gram-pozitivi sunt acoperiți cu diverse polizaharide care le permit să fie grupate în tipuri semnificative din punct de vedere medical.

Pereții celulari Gram-negativi

Pereții celulari ai bacteriilor gram-negative constau dintr-unul sau foarte puține straturi de peptidoglican și o membrană exterioară (vezi Figura 4.13c). Peptidoglicanul este legat de lipoproteine (lipide legate covalent de proteine) din membrana exterioară și se află în periplasmă, un fluid asemănător unui gel între membrana exterioară și membrana plasmatică. Periplasma conține o concentrație mare de enzime degradative și proteine de transport. Pereții celulari Gram negativi nu conțin acizi teicoici. Deoarece pereții celulari ai bacteriilor gram-negative conțin doar o cantitate mică de peptidoglican, acestea sunt mai susceptibile la rupere mecanică.

Membrana exterioară a celulei gram-negative este formată din lipopolizaharide (LPS), lipoproteine și fosfolipide (vezi Figura 4.13c). Membrana exterioară are mai multe funcții specializate. Sarcina sa negativă puternică este un factor important în eludarea fagocitozei și a acțiunilor complementului (lizează celulele și favorizează fagocitoza), două componente ale apărării gazdei (discutate în detaliu în capitolul 16). Membrana exterioară oferă, de asemenea, o barieră pentru anumite antibiotice (de exemplu, penicilina), enzime digestive precum lizozimul, detergenții, metalele grele, sărurile biliare și anumiți coloranți.

Cu toate acestea, membrana exterioară nu oferă o barieră pentru toate substanțele din mediu, deoarece nutrienții trebuie să treacă pentru a susține metabolismul celulei. O parte din permeabilitatea membranei exterioare se datorează proteinelor din membrană, numite porine, care formează canale. Porinele permit trecerea moleculelor precum nucleotide, dizaharide, peptide, aminoacizi, vitamina B12 și fier.

Lipopolizaharida (LPS) a membranei exterioare este o moleculă complexă mare care conține lipide și carbohidrați și constă din trei componente: (1) lipidă A, (2) o polizaharidă centrală și (3) o polizaharidă O. Lipida A este porțiunea lipidică a LPS și este încorporată în

stratul superior al membranei exterioare. Când bacteriile gram-negative mor, ele eliberează lipida A, care funcționează ca o endotoxină (Capitolul 15). Lipida A este responsabilă pentru simptomele asociate cu infecțiile cu bacterii gram-negative, cum ar fi febra, dilatarea vaselor de sânge, șoc și coagularea sângelui, polizaharida centrală este atașată la lipida A și conține zaharuri neobișnuite. Rolul său este structural - de a oferi stabilitate. Polizaharida O se extinde spre exterior de la polizaharida de bază și este compusă din molecule de zahăr. Polizaharida O funcționează ca un antigen

Caz clinic

Irene trece în revistă ce știe despre bacteriile gran ..negative K. pneumoniae. Deși această bacterie face parte din microbiota intestinală normală, în afara mediului său tipic, poate provoca infecții grave.

K. pneumoniae reprezintă aproximativ 8% din toate infecțiile asociate asistenței medicale. Irene presupune că bacteriile trebuiau să vină de la 1 spital de undeva.

Ce cauzează febra și tensiunea arterială la pacienți?

86

și este util pentru distingerea speciilor de bacterii gram-negative. De exemplu, agentul patogen alimentar E. coli O157:H7 se distinge de alte serovarii prin anumite teste de laborator care testează aceste antigene specifice. Acest rol este comparabil cu cel al acizilor teicoici din celulele gram-pozitive.

Pereții celulari și mecanismul colorației Gram

Acum că ați studiat colorația Gram (în capitolul 3, pagina 68) și chimia peretelui celular bacterian (în secțiunea anterioară), este mai ușor de înțeles mecanismul colorației Gram. Mecanismul se bazează pe diferențele în structura pereților celulari ai bacteriilor gram-pozitive și gram-negative și pe modul în care fiecare reacționează la diferiții reactivi (substanțe utilizate pentru producerea unei reacții chimice). Violet cristal, colorația primară, colorează atât celulele grampozitive, cât și cele gram-negative în violet, deoarece colorantul intră în citoplasma ambelor tipuri de celule. Când se aplică iod (mordantul), acesta formează cristale mari cu colorantul care sunt prea mari pentru a scăpa prin peretele celular. Aplicarea alcoolului deshidratează peptidoglicanul celulelor gram-pozitive pentru a-l face mai impermeabil la cristalul violet-iod. Efectul asupra celulelor gram-negative este destul de diferit; alcoolul dizolvă membrana exterioară a celulelor gramnegative și chiar lasă mici găuri în stratul subțire de peptidoglican prin care difuzează cristalul violet-iodul. Deoarece bacteriile gramnegative sunt incolore după spălarea cu alcool, adăugarea de safranină (contrapata) transformă celulele în roz sau roșu. Safranin Ci oferă o culoare contrastantă petei primare (violet cristal). Deși celulele gram-pozitive și gram-negative

absorb ambele safranina, culoarea roz sau roșie a safraninei este mascată de colorantul violet mai închis absorbit anterior de celulele gram-pozitive.

În orice populație de celule, unele celule gram-pozitive vor da un răspuns gram-negativ, celulele sunt de obicei moarte. Cu toate acestea, există câteva genuri gram-pozitive care arată un număr tot mai mare de celule gram-negative pe măsură ce cultura îmbătrânește. Bacillus și Clostridium sunt exemple și sunt adesea descrise ca variabile gram.

O comparație a unora dintre caracteristicile bacteriilor gram-pozitive și gram-negative este prezentată în Tabelul 4.1.

TABELUL 4^1 Câteva caracteristici comparative ale bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative

Caracteristică

Reacția Gram

Stratul de peptidoglican

Acizii teicoici

Spațiul periplasmatic

Membrana exterioara

Conținut de lipopolizaharide (LPS).

Conținut de lipide și lipoproteine

Structura flagelară

Toxine produse

Rezistența la perturbarea fizică

Distrugerea peretelui celular de către lizozimă

Sensibilitatea la penicilină și

Sulfonamidă

Sensibilitate la streptomicina, cloramfenicol și tetraciclină

Inhibarea prin coloranți de bază

Susceptibilitate la detergenți anionici

Rezistenta la azida de sodiu

Rezistenta la uscare

Prezent în multe

Absent

Absent

Practic nici unul

Scăzut (bacteriile acido-resistente au lipide legate de peptidoglican).

2 inele în corpul bazal

Exotoxine

Ridicat

Ridicat

Ridicat

Scăzut

Ridicat

Ridicat

Ridicat

Ridicat

Subțire (cu un singur strat)

Absent

Prezent

Prezent

Ridicat

Ridicat (din cauza prezenței membranei exterioare)

4 inele în corpul bazal

Endotoxine și exotoxine

Scăzut

Scăzut (necesită pretratare pentru a destabiliza membrana exterioară)

Scăzut

Înalt .

Scăzut

Scăzut

Scăzut

Scăzut

Pereții celulari atipici

Printre procariote, anumite tipuri de celule nu au pereți sau au foarte puțin material de perete, „aceștia includ membri din genul Mycoplasma (mi-ko-plaz'ma) și organisme înrudite (vezi Figura 11.20, pagina 320). iMicoplasmele sunt cele mai mici bacterii cunoscute care se pot dezvolta și se pot reproduce în afara celulelor gazdă vii. Din cauza dimensiunii lor și pentru că nu au pereți celulari, trec prin majoritatea filtrelor bacteriene și au fost mai întâi confundați cu virușí. Membranele lor plasmatice sunt unice printre bacterii prin faptul că au lipide numite steroli, despre care se crede că le ajută să le protejeze de liză (ruptură).

Arheele pot lipsi de pereți sau pot avea pereți neobișnuiți alcătuiți din polizaharide și proteine, dar nu și peptidoglican. Acești pereți conțin totuși o substanță similară cu peptidoglicanul numită pseudomureină. Pseudomureina conține acid N-acetiltalosaminuronic în loc de NAM și îi lipsesc D-aminoacizii găsiți în pereții celulelor bacteriene. În general, arheele nu pot fi colorate cu Gram, dar par gram-negative, deoarece nu conțin peptidoglican.

Pereții celulari acido-rezistenți

Amintiți-vă din capitolul 3 că colorația acido-rezistentă este utilizată pentru a identifica toate bacteriile din genul Mycobacterium și speciile patogene ale Nocardia. Aceste bacterii conțin concentrații mari (60%) dintr-o lipidă ceară hidrofobă (acid micolic) în peretele lor celular, care împiedică absorbția coloranților, inclusiv a celor utilizați în colorația Gram. Acidul micolic formează un strat în afara unui strat subțire de peptidoglican. Acidul micolic și peptidoglicanul sunt ținute împreună de o polizaharidă. „Peretele celular ceros hidrofob face ca ambele culturi de Mycobacterium să se aglomereze și să se lipească de pereții balonului. Bacteriile acido-rezistente pot fi colorate cu carbolfuchsin; încălzirea îmbunătățește pătrunderea petei. Carbolfuchsinul pătrunde în peretele celular, se leagă de citoplasmă și rezistă la îndepărtare prin spălare cu acid-alcool. Bacteriile acido-resistente păstrează culoarea roșie a carbolfuchsinei, deoarece este mai solubilă în peretele celular

acid micolic decât în acid-alcool. Dacă stratul de acid micolic este îndepărtat de pe peretele celular al bacteriilor acido-rezistente, acestea se vor colora gram-pozitive cu colorația Gram.

Deteriorarea peretelui celular

Substanțele chimice care dăunează pereților celulelor bacteriene sau interferează cu sinteza acestora, adesea nu dăunează celulelor unei gazde animale, deoarece peretele celular bacterian este format din substanțe chimice, spre deosebire de cele din celulele eucariote. Astfel, sinteza peretelui celular este ținta pentru unele medicamente antimicrobiene. O modalitate prin care peretele celular poate fi deteriorat este prin expunerea la lizozima enzimei digestive. Această enzimă apare în mod natural în unele celule eucariote și este o componentă a transpirației, lacrimilor, mucusului și salivei. Lizozima este deosebit de activă asupra componentelor majore ale peretelui celular al majorității bacteriilor gram-pozitive, făcându-le vulnerabile la liză. Lizozima catalizează hidroliza legăturilor dintre zaharurile din „coloana vertebrală” dizaharidă repetată a peptidoglicanului. Acest act este analog cu tăierea suporturilor de oțel ale unui pod cu o torță de tăiere: peretele celular gram-pozitiv este aproape complet distrus de lizozimă. Conținutul celular care rămâne înconjurat de membrana plasmatică poate rămâne intact dacă nu are loc liza; această celulă fără perete este numită protoplast. De obicei, un protoplast este sferic și este încă capabil să desfășoare metabolismul.

Unii membri ai genului Proteus, precum și alte genuri, își pot pierde pereții celulari și se pot umfla în celule cu formă neregulată numite forme L, numite după Institutul Lister, unde au fost descoperite. Ele se pot forma spontan sau se pot dezvolta ca răspuns la penicilină (care inhibă formarea peretelui celular) sau lizozimă (care îndepărtează peretele celular). Formele L pot trăi și diviza în mod repetat sau pot reveni la starea de zid.

Când lizozima este aplicată celulelor gram-negative, de obicei peretele nu este distrus în aceeași măsură ca în celulele gram-pozitive; mai rămâne o parte din membrana exterioară. În acest caz, conținutul celular, membrana plasmatică și stratul de perete exterior rămas se numesc sferoplast, de asemenea, o structură sferică. Pentru ca lizozimul să își exercite efectul asupra celulelor gram-negative, celulele sunt mai întâi tratate cu EDTA (acid etilendiaminotetraacetic). EDTA slăbește legăturile ionice din membrana exterioară și, prin urmare, o deteriorează, dând acces lizozimei la stratul de peptidoglican.

Protoplastele și sferoplastele izbucnesc în apă pură sau în soluții de sare sau zahăr foarte diluate, deoarece moleculele de apă din

Caz clinic

Membrana exterioară a K. pneumoniae s gram-negae o.-. . peretele conține endotoxina, lipida A, care provoacă febră și dilatarea capilară.

Irene lucrează cu medicii lui Joe, Jessie și Maureen pentru a combate această potențială. ,essie din cauza stării ei respiratorii deja slăbite. Toți cei trei pacienți sunt tratați cu un antibiotic p-lactamic, imipenem. Bacteriile Klebsiella sunt rezistente la multe antibiotice, iar

irmpenemul pare să funcționeze pentru Joe și Maureen. Jessie, totuși, devine din ce în ce mai rău.

De ce simptomele lui Jessie se agravează dacă bacteriile sunt ucise?

88

fluidul din jur se deplasează rapid și mărește celula, care are o concentrație internă mult mai mică de apă. Această ruptură, numită liză osmotică, va fi discutată în detaliu în scurt timp.

După cum sa menționat mai devreme, anumite antibiotice, cum ar fi penicilina, distrug bacteriile prin interferarea cu formarea punților încrucișate peptidice ale peptidoglicanului, prevenind astfel formarea unui perete celular funcțional. Majoritatea bacteriilor gram-negative nu sunt la fel de sensibile la penicilină precum bacteriile gram-pozitive, deoarece membrana exterioară a bacteriilor gram-negative formează o barieră care împiedică intrarea acestei substanțe și a altor substanțe, iar bacteriile gram-negative au mai puține punți încrucișate peptidice. Cu toate acestea, bacteriile gram-negative sunt destul de sensibile la unele antibiotice [3-lactamice, care pătrund în membrana exterioară mai bine decât penicilina. Antibioticele vor fi discutate mai detaliat în capitolul 20.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

V De ce sunt folositoare medicamentele care vizează sinteza peretelui celular? 4-5*

De ce sunt micoplasmele rezistente la antibioticele care interferează cu sinteza peretelui celular? 4-6

P**" Cum diferă protoplastele de formele L? 4-7

Structuri interne peretelui celular

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

4-8 Descrieți structura, chimia și funcțiile membranei plasmatice procariote.

4-9 Definiți difuzia simplă, difuzia facilitată, osmoza, transportul activ și translocarea grupului.

4-10 Identificați funcțiile nucleoidului și ale ribozomilor.

4-11 Identificați funcțiile a patru incluziuni.

4-12 Descrieți funcțiile endosporilor, sporulării și germinării endosporilor.

Până acum, am discutat despre peretele celular procariot și structurile externe acestuia. Vom privi acum în interiorul celulei procariote și vom discuta structurile și funcțiile membranei plasmatice și ale componentelor din citoplasma celulei.

Membrana plasmatică (citoplasmatică).

Membrana plasmatică (citoplasmatică) (sau membrana interioară) este o structură subțire care se află în interiorul peretelui celular și care înglobează citoplasma celulei (vezi Figura 4.6). Membrana plasmatică a procariotelor constă în principal din fosfolipide (vezi Figura 2.10, pagina 40), care sunt cele mai abundente substanțe chimice din membrană și proteine. Membranele plasmatice eucariote conțin și carbohidrați și steroli, cum ar fi colesterolul. Deoarece le lipsesc steroli, membranele plasmatice procariote sunt mai puțin rigide decât membranele eucariote. O excepție este Mycoplasma procariotă fără perete, care conține steroli de membrană.

Structura

În micrografiile electronice, membranele plasmatice procariote și eucariote (și membranele exterioare ale bacteriilor gram-negative) arată ca structuri cu două straturi; există două linii întunecate cu un spațiu deschis între linii (Figura 4.14a). Moleculele de fosfolipide sunt dispuse pe două rânduri paralele, numite dublu strat lipidic (Figura 4.14b). După cum a fost introdus în Capitolul 2, fiecare moleculă de fosfolipide conține un cap polar, compus dintr-o grupă fosfat și glicerol hidrofil (iubitor de apă) și solubil în apă și cozi nepolare, compuse din acizi grași care sunt hidrofobi (se tem de apă) și insolubili în apă (Figura 4.14c). Capetele polare sunt pe cele două suprafețe ale stratului dublu lipidic, iar cozile nepolare sunt în interiorul stratului dublu.

Moleculele de proteine din membrană pot fi aranjate într-o varietate de moduri. Unele, numite proteine periferice, sunt ușor îndepărtate din membrană prin tratamente ușoare și zac la

Figura 4.15 Cromatofori. În această micrografie a Rhodospirillum rubrum, o bacterie purpurie (fără sulf), cromatoforii sunt clar vizibili.

suprafața interioară sau exterioară a membranei. Ele pot funcționa ca enzime care catalizează reacțiile chimice, ca o „schelă” pentru sprijin și ca mediatori ai modificărilor formei membranei în timpul mișcării. Alte proteine, numite proteine integrale, pot fi îndepărtate din membrană numai după distrugerea stratului dublu lipidic (prin folosirea detergenților, de exemplu). Majoritatea proteinelor integrale pătrund complet în membrană și sunt numite proteine transmembranare. Unele proteine integrale sunt canale care au un por, sau o gaură, prin care substanțele intră și ies din celulă.

Multe dintre proteine și unele dintre lipidele de pe suprafața exterioară a membranei plasmatice au carbohidrați atașați de ele. Proteinele atașate carbohidraților se numesc glicoproteine; lipidele atașate carbohidraților se numesc glicolipide. Atât glicoproteinele, cât și glicolipidele ajută la protejarea și lubrifierea celulei și sunt implicate în interacțiunile

celulă la celulă. De exemplu, glicoproteinele joacă un rol în anumite boli infecțioase. Virusul gripal și toxinele care provoacă holera și botulismul intră în celulele lor țintă prin legarea mai întâi de glicoproteinele de pe membranele lor plasmatice.

Studiile au demonstrat că moleculele de fosfolipide și proteine din membrane nu sunt statice, ci se mișcă destul de liber în interiorul suprafeței membranei. Această mișcare este cel mai probabil asociată cu numeroasele funcții îndeplinite de membrana plasmatică. Deoarece cozile acizilor grași se lipesc împreună, fosfolipidele în prezența apei formează un strat dublu autoetanș; ca urmare, rupturile și lacrimile din membrană se vindecă singure. Membrana trebuie să fie la fel de vâscoasă ca uleiul de măsline, ceea ce permite proteinelor membranei să se miște suficient de liber pentru a-și îndeplini funcțiile fără a distruge structura membranei. Acest aranjament dinamic al fosfolipidelor și proteinelor este denumit modelul mozaic fluid.

Funcții

Cea mai importantă funcție a membranei p.asma este de a servi ca o barieră selectivă prin care materialele intră și ies din celulă. În această funcție, membranele plasmatice au permeabilitate selectivă (numită uneori semipermeabilitate). Acest termen indică faptul că anumite molecule și ioni trec prin membrană, dar că altele sunt împiedicate să treacă prin membrană

Permeabilitatea c: membrana depinde de mai mulți factori. Moleculele mari (cum ar fi proteinele) nu pot trece prin membrana plasmatică, posibil pentru că aceste molecule sunt mai mari decât porii din proteinele integrale care funcționează ca canale. Dar moleculele mai mici (cum ar fi apa, oxigenul, dioxidul de carbon și unele zaharuri simple) trec de obicei cu ușurință. Ionii pătrund în membrană foarte încet. Substanțele care se dizolvă ușor în lipide (cum ar fi oxigenul, dioxidul de carbon și moleculele organice nepolare) intră și ies mai ușor decât alte substanțe, deoarece membrana constă în principal din fosfolipide. Mișcarea materialelor prin membranele plasmatice depinde și de moleculele transportoare, care vor fi descrise în scurt timp.

Membranele plasmatice sunt, de asemenea, importante pentru descompunerea nutrienților și producerea de energie. Membranele plasmatice ale bacteriilor conțin enzime capabile să catalizeze reacțiile chimice care descompun nutrienții și produc ATP. La unele bacterii, pigmenții și enzimele implicate în fotosinteză se găsesc în pliuri ale membranei plasmatice care se extind în citoplasmă. Aceste structuri membranoase se numesc cromatofori sau tilacoizi (Figura 4.15).

Când sunt privite cu un microscop electronic, membranele plasmatice bacteriene par adesea să conțină unul sau mai multe pliuri mari, neregulate, numite mezosomi. Multe funcții au fost propuse pentru mezosomi. Cu toate acestea, acum se știe că acestea sunt artefacte, nu structuri celulare adevărate. Se crede că mezozomii sunt pliuri ale membranei plasmatice care se dezvoltă prin procesul utilizat pentru pregătirea specimenelor pentru microscopia electronică. Animații Structura membranei; Permeabilitatea membranei

Distrugerea membranei plasmatice de către agenți antimicrobieni

Deoarece membrana plasmatică este vitală pentru celula bacteriană, nu este surprinzător faptul că mai mulți agenți antimicrobieni își exercită efectele în acest loc. În plus față de substanțele chimice care deteriorează peretele celular și, prin urmare, expun în mod indirect membrana la răni, mulți compuși dăunează în mod specific membranelor plasmatice. Acești compuși includ anumiți alcooli și compuși de amoniu cuaternar, care sunt utilizați ca dezinfectanți. Prin perturbarea fosfolipidelor membranei, un grup de antibiotice cunoscut sub numele de polimixine provoacă scurgerea conținutului intracelular și moartea ulterioară a celulelor. Acest mecanism va fi discutat în capitolul 20.

Mișcarea materialelor peste membrane

Materialele se deplasează prin membranele plasmatice ale celulelor procariote și eucariote prin două tipuri de procese: pasiv și activ. În procesele pasive, substanțele traversează membrana dintr-o zonă de concentrație mare într-o zonă de concentrație scăzută (se mișcă cu gradientul de concentrație sau diferența), fără nicio cheltuială de energie (ATP) de către celulă. În procesele active, celula trebuie să folosească energie (A 1P) pentru a muta substanțele din zone cu concentrație scăzută în zone cu concentrație mare (contra gradientului de concentrație).

Procese pasive

procesele lasive includ difuzia simplă, difuzia facilitată și osmoza.

Difuzia simplă este mișcarea netă (în general) a moleculelor sau ionilor dintr-o zonă de concentrație mare într-o zonă de concentrație scăzută (Figura 4.16 și Figura 4.17a). Mișcarea continuă până când moleculele sau ionii sunt distribuite uniform. Punctul de distribuție pară se numește echilibru. Celulele se bazează pe difuzie simplă pentru a transporta anumite molecule mici, cum ar fi oxigenul și dioxidul de carbon, prin membranele lor celulare.

În difuzia facilitată, proteinele integrale ale membranei funcționează ca canale sau purtători care facilitează mișcarea ionilor sau a moleculelor mari prin membrana plasmatică. Astfel de proteine integrale sunt numite transportatori sau permeaze. Difuzia facilitată este similară cu difuzia simplă prin faptul că celula nu consumă energie, deoarece substanța se mută de la o concentrație mare la o concentrație scăzută. Procesul diferă de simpla difuzare în utilizarea transportoarelor. Unii transportori permit trecerea ionilor anorganici, în mare parte mici, care sunt prea hidrofili pentru a pătrunde în interiorul nepolar al stratului dublu lipidic (Figura 4.17b). Aceste transportoare, care sunt comune

Figura 4.16 Principiul difuziei simple, (a) După ce o granulă de colorant este pusă într-un pahar de apă, moleculele de colorant din peleta difuzează în apă dintr-o zonă cu

concentrație mare de colorant în zone cu concentrație scăzută de colorant, (b) Colorantul permanganat de potasiu în procesul de difuzare.

De ce sunt importante procesele pasive pentru o celulă?

la procariote, sunt nespecifice și permit trecerea unei mari varietăți de ioni (sau chiar molecule mici). Alți transportatori, care sunt obișnuiți la eucariote, sunt specifici și transportă doar molecule specifice, de obicei mai mari, cum ar fi zaharurile simple (glucoză, fructoză și galactoză) și vitamine. În acest proces, substanța transportată se leagă de un transportor specific de pe suprafața exterioară a membranei plasmatice, care suferă o schimbare de formă; apoi transportorul eliberează substanța pe cealaltă parte a membranei (Figura 4.17c).

În unele cazuri, moleculele de care au nevoie bacteriile sunt prea mari pentru a fi transportate în celule prin aceste metode. Cu toate acestea, majoritatea bacteriilor produc enzime care pot descompune moleculele mari în molecule mai simple (cum ar fi proteinele în aminoacizi sau polizaharidele în zaharuri simple). Astfel de enzime, care sunt eliberate de bacterii în mediul înconjurător, sunt numite în mod corespunzător enzime extracelulare. Odată ce enzimele degradează moleculele mari, subunitățile se deplasează în celulă cu ajutorul transportorilor. De exemplu, purtătorii specifici preiau bazele ADN, cum ar fi guanina purină, din mediile extracelulare și le aduc în citoplasma celulei.

Osmoza este mișcarea netă a moleculelor de solvent printr-o membrană permeabilă selectiv dintr-o zonă cu o concentrație mare de molecule de solvent (concentrație scăzută de molecule de dizolvat) într-o zonă cu concentrație scăzută de molecule de solvent (concentrație mare de molecule de dizolvat). În sistemele vii, solventul principal este apa. Moleculele de apă pot trece prin membranele plasmatice prin mișcarea prin stratul dublu lipidic prin difuzie simplă sau prin proteine membranare integrale, numite acvaporine, care funcționează ca canale de apă (Figura 4.17d).

Osmoza poate fi demonstrată cu aparatul prezentat în Figura 4.18a. Un sac construit din celofan, care este o membrană permeabilă selectiv, este umplut cu o soluție de 20% zaharoză (zahăr de masă). Sacul de celofan se pune într-un pahar de laborator care conține apă distilată. Inițial, concentrațiile de apă de pe ambele părți ale membranei sunt diferite. Din cauza

molecule de zaharoză, concentrația de apă este mai mică în interiorul sacului de celofan. Prin urmare, apa trece din pahar (unde concentrația sa este mai mare) în sacul de celofan (unde concentrația sa este mai mică).

Cu toate acestea, nu există nicio mișcare a zahărului din sacul de celofan în pahar, deoarece celofanul este impermeabil la moleculele de zahăr - moleculele de zahăr sunt prea mari pentru a trece prin porii membranei. Pe măsură ce apa trece în sacul de celofan, soluția de zahăr devine din ce în ce mai diluată și, deoarece sacul de celofan s-a extins până la limita sa

sub forma unui volum crescut de apă, apa începe să urce în tubul de sticlă. În timp, apa care s-a acumulat în sacul de celofan și tubul de sticlă exercită o presiune în jos care forțează moleculele de apă să iasă din sacul de celofan și înapoi în pahar. Mișcarea apei printr-o membrană permeabilă selectiv produce presiune osmotică. Presiunea osmotică este presiunea necesară pentru a preveni mișcarea apei pure, fără substanțe dizolvate) într-o soluție care conține unele substanțe dizolvate. Cu alte cuvinte, presiunea osmotică este presiunea necesară pentru a opri curgerea apei prin membrana permeabilă selectiv (celofan). Când moleculele de apă pleacă și intră în sacul de celofan în aceeași viteză, se atinge echilibrul (Figura 4.18b).

O celulă bacteriană poate fi supusă la oricare dintre cele trei tipuri de soluții osmotice: izotonice, hipotonice sau hipertonice. O soluție izotonă este un mediu în care concentrația totală de substanțe dizolvate este egală cu cea găsită în interiorul unei celule (iso înseamnă egală). Apa iese și intră în celulă în același ritm (nicio schimbare netă); conținutul celulei este în echilibru cu soluția din afara peretelui celular (Figura 4.18c).

Mai devreme am menționat că lizozimul și anumite antibiotice (cum ar fi penicilina) dăunează pereților celulelor bacteriene, provocând ruperea sau liza celulelor. O astfel de ruptură are loc deoarece citoplasma bacteriană conține de obicei o concentrație atât de mare de substanțe dizolvate încât, atunci când peretele este slăbit sau îndepărtat, apă suplimentară intră în celulă prin osmoză. Peretele celular deteriorat (sau îndepărtat) nu poate limita umflarea membranei citoplasmatice, iar membrana sparge. Acesta este un exemplu de liză osmotică cauzată de scufundarea într-o soluție hipotonă. O soluție hipotonă în afara celulei este un mediu a cărui concentrație de substanțe dizolvate este mai mică decât cea din interiorul celulei (hipo înseamnă sub sau mai puțin). Majoritatea bacteriilor trăiesc în soluții hipotonice, iar peretele celular rezistă în continuare la osmoză și protejează celulele de liză. Celulele cu pereți celulari slabi, cum ar fi bacteriile gram-negative, pot izbucni sau pot suferi liză osmotică ca urmare a aportului excesiv de apă (Figura 4.18d).

O soluție hipertonică este un mediu cu o concentrație mai mare de substanțe dizolvate decât o are în interiorul celulei (hiper înseamnă mai sus sau mai mult). Majoritatea celulelor bacteriene plasate într-o soluție hipertonică se micșorează și se prăbușesc sau se plasniolizează deoarece apa părăsește celulele prin osmoză (Figura 4.18e). Rețineți că termenii izotonic, hipotonic și hipertonic descriu concentrația soluțiilor din afara celulei în raport cu concentrația din interiorul celulei, (mm Animații Transport pasiv: principii de difuzie, tipuri speciale de difuzie

Procese active

Difuzia simplă și difuzia facilitată sunt mecanisme utile pentru transportul substanțelor în celule atunci când concentrațiile substanțelor sunt mai mari în afara celulei. Cu toate acestea, atunci când o celulă bacteriană se află într-un mediu în care nutrienții sunt în concentrație scăzută, celula trebuie să folosească procese active, cum ar fi transportul activ și translocarea grupului, pentru a acumula substanțele necesare.

În efectuarea transportului activ, celula folosește energia sub formă de A I'P pentru a muta substanțele prin membrana plasmatică. Printre substanțele transportate activ se numără ionii (de exemplu Na+, K*, Hj Car și Cl'), aminoacizii și zaharurile simple. Deși aceste substanțe pot fi, de asemenea, mutate în celule prin procese pasive, mișcarea lor prin procese active poate merge împotriva gradientului de concentrație, permiţând unei celule să acumuleze materialele necesare. Mișcarea unei substanțe în transport activ este de obicei din exterior spre interior, chiar dacă concentrația ar putea fi mult mai mare în interiorul celulei. La fel ca difuzia facilitată, transportul activ depinde de proteinele transportoare din membrana plasmatică (vezi Figura 4.17b, c). Se pare că există un transportator diferit pentru fiecare substanță transportată sau grup de substanțe transportate strâns înrudite. Transportul activ permite microbilor să deplaseze substanțe prin membrana plasmatică într-o rată constantă, chiar dacă acestea sunt insuficiente.

În transportul activ, substanța care traversează membrana nu este alterată prin transportul prin membrană. În translocarea de grup, o formă specială de transport activ care are loc exclusiv la procariote, substanța este modificată chimic în timpul transportului prin membrană. Odată ce substanța este alterată și în interiorul celulei, membrana plasmatică este impermeabilă la aceasta, deci rămâne în interiorul celulei. Acest mecanism important permite unei celule să acumuleze diferite substanțe, chiar dacă acestea pot fi în concentrații scăzute în afara celulei. Translocarea grupului necesită energie furnizată de compuși fosfatați de înaltă energie, cum ar fi acidul fosfoenolpiruvic (PEP).

Un exemplu de translocare de grup este transportul zahărului de glucoză, care este adesea folosit în mediile de creștere pentru bacterii. În timp ce o proteină purtătoare specifică transportă molecula de glucoză prin membrană, zahărului este adăugată o grupare fosfat. Această formă fosforilată de glucoză, care nu poate fi transportată afară, poate fi apoi utilizată în căile metabolice ale celulei.

Unele celule eucariote (cele fără pereți celulari) pot folosi două procese suplimentare de transport activ numite fagocitoză și pinocitoză. Aceste procese, care nu apar la bacterii, sunt explicate la pagina 100. Animații Transport activ: tipuri, prezentare generală

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce agenți pot provoca leziuni membranei plasmatice bacteriene? 4-8

P* Cum se aseamănă difuzia simplă și difuzia facilitată? Cum sunt ele diferite? 4-9

Citoplasma

Pentru o celulă procariotă, termenul citoplasmă se referă la substanța celulei din interiorul membranei plasmatice (vezi Figura 4.6). Citoplasma este aproximativ 80% apă și conține în principal proteine (enzime), carbohidrați, lipide, ioni anorganici și mulți compuși cu greutate moleculară mică. Ionii anorganici sunt prezenți în concentrații mult mai mari în citoplasmă decât în majoritatea mediilor. Citoplasma este groasă, apoasă, semitransparentă și elastică. Structurile majore din citoplasma procariotelor sunt un nucleoid (conținând

ADN), particule numite ribozomi și depozite de rezervă numite incluziuni. Filamentele de proteine din citoplasmă sunt cel mai probabil responsabile pentru formele celulelor elicoidale și baghetei bacteriilor.

Citoplasmei procariote îi lipsesc anumite caracteristici ale citoplasmei eucariote, cum ar fi un citoschelet și fluxul citoplasmatic. Aceste caracteristici vor fi descrise mai târziu.

Nucleoidul

Nucleoidul unei celule bacteriene (vezi Figura 4.6) conține de obicei un singur fir lung, continuu și frecvent aranjat circular de ADN dublu catenar numit cromozom bacterian. Aceasta este informația genetică a celulei, care conține toate informațiile necesare structurilor și funcțiilor celulei. Spre deosebire de cromozomii celulelor eucariote, cromozomii bacterieni nu sunt înconjurați de o înveliș nuclear (membrană) și nu includ histone. Nucleoidul poate fi sferic, alungit sau sub formă de gantere. În bacteriile în creștere activă, până la 20% din volumul celulei este ocupat de ADN, deoarece astfel de celule presintetizează materialul nuclear pentru celulele viitoare. Cromozomul este atașat de membrana plasmatică. Se crede că proteinele din membrana plasmatică sunt responsabile pentru replicarea ADN-ului și segregarea noilor cromozomi în celulele fiice în timpul diviziunii celulare.

În plus față de cromozomul bacterian, bacteriile conțin adesea molecule mici de ADN, de obicei circulare, dublu catenar, numite plasmide (vezi factorul F din Figura 8.26a, pagina 234). Aceste molecule sunt elemente genetice extracromozomiale; adică nu sunt conectate la cromozomul bacterian principal și se reproduc independent de ADN-ul cromozomial. Cercetările indică faptul că plasmidele sunt asociate cu proteinele membranei plasmatice. Plasmidele conțin de obicei de la 5 la 100 de gene care, în general, nu sunt crurale pentru supraviețuirea bacteriei în condiții normale de mediu; plasmidele pot fi câștigate sau pierdute fără a afecta celula. În anumite condiții însă, plasmidele reprezintă un avantaj pentru celule. Plasmidele pot purta gene pentru activități precum rezistența la antibiotice, toleranța la metale toxice, producerea de toxine și sinteza enzimelor. Plasmidele pot fi transferate de la o bacterie la alta. De fapt, ADN-ul plasmidic este folosit pentru manipularea genelor în biotehnologie.

Ribozomi

Toate celulele eucariote și procariote conțin ribozomi, care funcționează ca locuri de sinteză a proteinelor. Celulele care au crescut

(a) Subunitate mică (b) Subunitate mare (Ș Complete 70S

'' ribozom

Figura 4.19 Ribozomul procariot, (a) o subunitate mică 30S și (b) o subunitate mare 50S alcătuiesc (c) ribozomul procariotic 70S complet.

[Qjf] care este importanța diferențelor dintre ribozomii procarioți și eucarioți în ceea ce privește terapia cu antibiotice?

ratele de sinteză a proteinelor, cum ar fi cele care sunt în creștere activă, au un număr mare de ribozomi. Citoplasma unei celule procariote conține zeci de mii din aceste structuri foarte mici, care dau citoplasmei un aspect granular (vezi Figura 4.6).

Ribozomii sunt formați din două subunități, fiecare constând din proteine și un tip de ARN numit ARN ribozomal (ARNr). Ribozomii procarioți diferă de ribozomii eucarioți prin numărul de proteine și molecule de ARNr pe care le conțin; sunt, de asemenea, ceva mai mici și mai puțin denși decât ribozomii celulelor eucariote. În consecință, ribozomii procarioți sunt numiți ribozomi 70S (Figura 4.19), iar cei ai celulelor eucariote sunt cunoscuți ca ribozomi 80S. Litera S se referă la unitățile Svedberg, care indică viteza relativă de sedimentare în timpul centrifugării cu viteză ultra-înaltă. Rata de sedimentare este o funcție de dimensiunea, greutatea și forma unei particule. Subunitățile unui ribozom 70S sunt o subunitate mică 30S care conține o moleculă de ARNr și o subunitate mai mare 50S care conține două molecule de ARNr.

Mai multe antibiotice acționează prin inhibarea sintezei proteinelor pe ribozomii procarioți. Antibioticele precum streptomicina și gentamicina se atașează la subunitatea 3OS și interferează cu sinteza proteinelor. Alte antibiotice, cum ar fi eritromicina și cloramfenicolul, interferează cu sinteza proteinelor prin atașarea la subunitatea 50S. Din cauza diferențelor dintre ribozomii procarioți și eucarioți, celula microbiană poate fi ucisă de antibiotic, în timp ce celula gazdă eucariotă rămâne neafectată.

Incluziuni

În citoplasma celulelor procariote se află mai multe tipuri de depozite de rezervă, cunoscute sub numele de incluziuni. Celulele pot acumula anumiți nutrienți atunci când sunt din abundență și îi pot folosi atunci când mediul este deficitar. Dovezile sugerează că macromoleculele concentrate în incluziuni evită creșterea presiunii osmotice care ar rezulta dacă moleculele ar fi dispersate în citoplasmă. Unele incluziuni sunt comune pentru o mare varietate de bacterii, în timp ce altele sunt limitate la un număr mic de specii și, prin urmare, servesc drept bază pentru identificare.

Caz clinic

Antibioticul a ucis bacteriile, dar endotoxina este eliberată atunci când celulele mor, determinând agravarea stării lui Jessie. Medicul lui Jessie prescrie polimixină, un antibiotic utilizat în principal pentru infecțiile gram-negative rezistente la imipenem, la care Jessie răspunde favorabil.

În timp ce Irene stă cu Jessie, ea observă că un alt pacient este hrănit cu chipsuri de gheață de către o rudă. Dintr-o bănuială, Irene se grăbește înapoi. ■' biroul ei pentru a afla dacă mașinile de gheață fuseseră tamponate. Ei! nu au. Ea ordonă imediat ca mașinile să fie tamponate și cultivate. Bănuiala ei se dovedește a fi conexă: probele sunt pozitive pentru K. pneumoniae. Bacteriile care cresc în conductele de apă ale spitalului au intrat în mașina de gheață cu apa care intra. .

Cum poate crește K. pneumoniae în conductele de apă?

95

Cum se comportă magnetozomii ca magneții?

Granule metacromatice

Granulele metacromatice sunt incluziuni mari care își iau numele de la faptul că uneori se colorează în roșu cu anumiți coloranți albaștri, cum ar fi albastrul de metilen. În mod colectiv, ele sunt cunoscute sub numele de volutin. Volutina reprezintă o rezervă de fosfat anorganic (polifosfat) care poate fi folosită în sinteza ATP. Este, în general, format din celule care cresc în medii bogate în fosfați. Granulele metacromatice se găsesc în alge, ciuperci și protozoare, precum și în bacterii. Aceste granule sunt caracteristice Corynebacterium diphtherias (ko-ri-ne-bak-ti're-um dif-thi're-i), agentul cauzal al difteriei; astfel, au semnificație diagnostică.

Granule de polizaharidă

Incluziunile cunoscute sub numele de granule de polizaharide constau de obicei din glicogen și amidon, iar prezența lor poate fi demonstrată atunci când iodul este aplicat pe celule. În prezența iodului, granulele de glicogen apar maro roșcat, iar granulele de amidon apar albastru.

Incluziuni lipidice

Incluziunile lipidice apar în diferite specii de Mycobacterium, Bacillus, Azotobacter (a-zo-to-bak'ter), Spirillum (spi-rilTum) și alte genuri. Un material comun de stocare a lipidelor, unul unic pentru bacterii, este acidul polimeric poli-fl-hidroxibutiric. Incluziunile lipidice sunt dezvăluite prin colorarea celulelor cu coloranți solubili în grăsimi, cum ar fi coloranții Sudan.

Granule de sulf

Anumite bacterii – de exemplu, „bacteriile cu sulf" care aparțin genului Thiobacillus – obțin energie prin oxidarea sulfului și a compușilor care conțin sulf. Aceste bacterii pot depune granule de sulf în celulă, unde servesc drept rezervă de energie.

Carboxizomii

Carboxizomii sunt incluziuni care conțin enzima ribuloză 1,5-difosfat carboxilază. Bacteriile fotosintetice folosesc dioxidul de carbon ca unică sursă de carbon și necesită această enzimă pentru fixarea dioxidului de carbon. Printre bacteriile care conțin carboxizomi se numără bacteriile nitrificatoare, cianobacteriile și tiobacilii.

Vacuole de gaz

Cavitățile goale găsite în multe procariote acvatice, inclusiv cianobacteriile, bacteriile fotosintetice anoxigenice și halobacteriile sunt numite vacuole gazoase. Fiecare vacuolă constă din rânduri de vezicule ale mai multor persoane, care sunt cilindri goli acoperiți de proteine. Vacuolele de gaz mențin flotabilitatea, astfel încât celulele să poată rămâne la adâncimea în apă adecvată pentru a primi cantități suficiente de oxigen, lumină și nutrienți.

Magnetozomi

Magnetozomii sunt incluziuni de oxid de fier (Fe_3O_4) înconjurate de invaginări ale membranei plasmatice. Magnetozomii sunt formați din mai multe bacterii gram-negative, cum ar fi Magnetospirillum magnetotacticum și acționează ca niște magneți (Figura 4.20). Bacteriile pot folosi magnetozomi pentru a se deplasa în jos până când ajung la un loc de atașare adecvat. In vitro, magnetozomii pot descompune peroxidul de hidrogen, care se formează în celule în prezența oxigenului. Cercetătorii speculează că magnetozomii pot proteja celula împotriva acumulării de peroxid de hidrogen.

Endospori

Când nutrienții esențiali sunt epuizați, anumite bacterii gram-pozitive, cum ar fi cele din genurile Clostridium și Bacillus, formează celule specializate „de repaus" numite endospori (Figura 4.21). Ca

cromozom

(ADN)

Membrana plasmatică Q începe să înconjoare ADN-ul, citoplasma V și membrana izolată în pasul 1.

(a) Sporularea, procesul de formare a endosporilor

(b) Un endospor de Bacillus subtilis

TEM

l.5 //rn

Figura 4.21 Formarea endosporilor prin sporulare.

Ce proprietăți îi fac pe endospori rezistenți la procesele care ucid în mod normal celulele vegetative?

veți vedea mai târziu, unii membri ai genului Clostridium provoacă boli precum cangrena, tetanosul, botulismul și toxiinfecțiile alimentare. Unii membri ai genului Bacillus provoacă antrax și toxiinfecții alimentare. Unici pentru bacterii, endosporii sunt celule deshidratate extrem de durabile, cu pereți groși și straturi suplimentare. Ele sunt formate în interiorul membranei celulare bacteriene.

Când sunt eliberate în mediu, pot supraviețui căldurii extreme, lipsei de apă și expunerii la multe substanțe chimice toxice și radiații. De exemplu, endospori vechi de 7500 de ani de Thermoactinomyces vulgaris (ther-mo-ak-tin-o-mises vul-ga'-ris) din noroiurile înghețate ale Lacului Elk din Minnesota au germinat atunci când au fost încălziți și plasați într-un mediu nutritiv, iar 25-40 de milioane de ani de la endospores găsite într-un patul de endosgutpore fără toam. se raportează că chihlimbarul (rășină de copac întărită) din Republica Dominicană a germinat când a fost plasat în medii nutritive. Deși adevărații endospori se găsesc în bacteriile gram-pozitive, o specie gram-negativă, Coxiella burnetii (kaks-e-el'la ber-ne'te-e), cauza febrei Q, formează structuri asemănătoare endosporilor care rezistă la căldură și substanțe chimice și pot fi colorate cu pete de endospori (vezi Figura 24.14, pagina 696).

Procesul de formare a endosporilor într-o celulă vegetativă durează câteva ore și este cunoscut sub numele de sporulare sau sporogeneză (Figura 4.21a). Celulele vegetative ale bacteriilor care formează endospori încep sporularea atunci când un nutrient cheie, cum ar fi sursa de carbon ornitrogen, devine rar sau indisponibil. În prima etapă observabilă a sporulării, un cromozom bacterian nou replicat și o mică parte a citoplasmei sunt izolate printr-o creștere a membranei plasmatice numită sept de spori. Septul sporilor devine o membrană cu două straturi care înconjoară cromozomul și citoplasma. Această structură, complet închisă în celula originală, se numește forespore. Straturi groase de peptidoglican sunt așezate între cele două straturi membranare. Apoi, în jurul membranei exterioare se formează un spor gros de proteine; acest strat este responsabil pentru rezistența

endosporilor la multe substanțe chimice dure. Celula originală este degradată, iar endosporul este eliberat.

Diametrul endosporului poate fi același cu, mai mic sau mai mare decât diametrul celulei vegetative. În funcție de specie, endosporul poate fi situat terminal (la un capăt), subterminal (lângă un capăt; Figura 4.21b) sau central în interiorul celulei vegetative. Când endosporul se maturizează, peretele celular vegetativ se rupe (lizează), ucigând celula, iar endosporul este eliberat.

Cea mai mare parte a apei prezente în citoplasma ioresporelor este eliminată în momentul în care sporularea este completă, iar endosporii nu desfășoară reacții metabolice. Endosporul conține o cantitate mare de acid organic numit acid dipicolinic (DPA), care este însoțit de un număr mare de ioni de calciu. Dovezile indică faptul că DPA protejează ADN-ul endosporului împotriva deteriorării. Miezul endosporului foarte deshidratat conține doar ADN, cantități mici de ARN, ribozomi, enzime și câteva molecule mici importante. Aceste componente celulare sunt esențiale pentru reluarea mai târziu a metabolismului.

Endosporii pot rămâne latenți timp de mii de ani. Un endospor revine la starea sa vegetativă printr-un proces numit germinare. Germinarea este declanșată de deteriorarea fizică sau chimică a stratului de endospori. „Enzimele endosporilor descompun apoi straturile suplimentare din jurul endosporului, apa intră și metabolismul se reia. Deoarece o celulă vegetativă formează un singur endospor, care, după germinare, rămâne o celulă, sporularea în bacterii nu este un mijloc de reproducere. Acest proces nu crește numărul de celule. Endosporii bacterieni diferă de sporii formați de actinomicete (procariote) și eucariote

Caz clinic rezolvat

Este glicocalixul care permite bacteriilor din apă să se lipească în interiorul unei țevi. Bacteriile cresc încet în apa de la robinet săracă în nutrienți, dar nu sunt spălate de apa care curge. Într-o țeavă se poate acumula un strat viros de bacterii. Irene descoperă că dezinfectantul din alimentarea cu apă a spitalului era inadecvat pentru a preveni creșterea bacteriilor. Unele bacterii pot fi dislocate prin curgerea apei și chiar și bacteriile în mod normal inofensive pot infecta o incizie chirurgicală sau o gazdă slăbită.

ciuperci și alge, care se desprind de părinte și se dezvoltă într-un alt organism și, prin urmare, reprezintă reproducerea.

Endosporii sunt importanți din punct de vedere clinic și în industria alimentară, deoarece sunt rezistenți la procesele care ucid în mod normal celulele vegetative. Astfel de procese includ încălzirea, înghețarea, uscarea, utilizarea de substanțe chimice și radiațiile. În timp ce majoritatea celulelor vegetative sunt ucise de temperaturi peste 70°C, endosporii pot supraviețui în apă clocotită timp de câteva ore sau mai mult. Endosporii bacteriilor termofile (iubitoare de căldură) pot supraviețui în apă clocotită timp de 19 ore. Bacteriile care formează endospori reprezintă o problemă în industria alimentară, deoarece este

probabil să supraviețuiască subprocesării și, dacă apar condiții de creștere, unele specii produc toxine și boli. Metode speciale pentru controlul organismelor care produc endospori sunt discutate în capitolul 7.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Unde se află ADN-ul într-o celulă procariotă? 4-10

Care este funcția generală a incluziunilor? 4-11

P* În ce condiții se formează endosporii? 4-12

* * *

După ce am examinat anatomia funcțională a celulei procariote, ne vom uita acum la anatomia funcțională a celulei eucariote.

Celula eucariotă

După cum am menționat mai devreme, organismele eucariote includ alge, protozoare, ciuperci, plante și animale. Celula eucariotă este de obicei mai mare și mai complexă structural decât celula procariotă (Figura 4.22). Când structura celulei procariote din figura 4.6 este comparată cu cea a celulei eucariote, diferențele dintre cele două tipuri de celule devin evidente. Principalele diferențe dintre celulele procariote și eucariote sunt rezumate în Tabelul 4.2 pagina 100.

Următoarea discuție despre celulele eucariote va paralel cu discuția noastră despre celulele procariote, începând cu structurile care se extind spre exteriorul celulei.

Reticulul endoplasmatic neted

Reticulul endoplasmatic aspru

(a) Diagrama foarte schematică a unei celule eucariote compozite, jumătate vegetală și jumătate animală

(b) Micrografii electronice de transmisie ale celulelor vegetale și animale.

„figura 4.22 Celule eucariote care prezintă structuri tipice. &■■■ Ce regnuri conţin organisme eucariote?

Figura 4.23 Flageli și cili eucariote.

(a) O micrografie a Euglenei, o algă care conține clorofilă, cu flagelul său, (b) O micrografie a lui Fstrahymena, un protozoar obișnuit de apă dulce, cu cili, (c) Structura internă a unui flagel (sau cili), care arată aranjamentul 9 + 2 al microtubulilor, (d) Modelul mișcării unui flagel eucariotic.

Flagella și Cilia

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-13 Diferențierea flagelilor procarioți și eucarioți.

Multe tipuri de celule eucariote au proiecții care sunt folosite pentru locomoția celulară sau pentru mișcarea substanțelor de-a lungul suprafeței celulei. Aceste proiecții conțin citoplasmă și sunt închise de membrana plasmatică. Dacă proiecțiile sunt puține și sunt lungi în raport cu dimensiunea celulei, se numesc flageli. Dacă proiecțiile sunt numeroase și scurte, se numesc cili (singular: cili).

Algele din genul Euglena (ugle'na) folosesc un flagel pentru locomoție, în timp ce protozoarele, cum ar fi Tetrahyniena (tet-ră-hî'me-nă), folosesc cilii pentru locomoție (Figura 4.23a și Figura 4.23b). Atât flagelii, cât și cilii sunt ancorați de membrana plasmatică printr-un corp bazal și ambele constau din nouă perechi de microtubuli (dublete) aranjate într-un inel, plus încă doi microtubuli în centrul inelului, un aranjament numit matrice 9 + 2 (Figura 4.23c). Microtubulii sunt tuburi lungi, goale, formate dintr-o proteină numită tubulină. Un flagel procariot se rotește, dar un flagel eucariot se mișcă într-o manieră ondulată (Figura 4.23d). Pentru a menține materialul străin în afara plămânilor, celulele ciliate ale sistemului respirator uman deplasează materialul de-a lungul suprafeței celulelor din tuburile bronșice și din trahee spre gât și gură (vezi Figura 16.4, pagina 454).

Peretele celular și glicocalix

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-14 Comparați și contrastați pereții celulelor procariote și eucariote și glicocalicii.

Majoritatea celulelor eucariote au pereți celulari, deși sunt în general mult mai simpli decât cei ai celulelor procariote. Multe alge au pereți celulari formați din celuloză polizaharidă (la fel ca toate plantele); pot fi prezente și alte substanțe chimice. Pereții celulari ai unor ciuperci conțin, de asemenea, celuloză, dar la majoritatea ciupercilor principala componentă structurală a peretelui celular este chitina polizaharidă, un polimer al unităților de N-acetilglucozamină (NAG). (Chitina este, de asemenea, principala componentă structurală a exoscheletului crustaceelor și insectelor.) Pereții celulari ai drojdiilor conțin polizaharidele glucan și manan. La eucariotele cărora le lipsește un perete celular, membrana plasmatică poate fi învelișul exterior; cu toate acestea, celulele care au contact direct cu mediul înconjurător pot avea acoperiri în afara membranei plasmatice. Protozoarele nu au un perete celular tipic; în schimb, au o acoperire proteică exterioară flexibilă numită peliculă.

În alte celule eucariote, inclusiv celulele animale, membrana plasmatică este acoperită de un glicocalix, un strat de material care conține cantități substanțiale de carbohidrați lipiciosi. Unii dintre acești carbohidrați sunt legați covalent de proteinele și lipidele din membrana plasmatică, formând glicoproteine și glicolipide care ancorează glicocalixul de celulă. Glicocalixul întărește suprafața celulei, ajută la atașarea celulelor împreună și poate contribui la recunoașterea celulă-celulă.

Celulele eucariote nu conțin peptidoglican, cadrul peretelui celular procariote. Acest lucru este semnificativ din punct de vedere medical, deoarece antibioticele, cum ar fi penicilinele și cefalosporinele, acționează împotriva peptidoglicanului și, prin urmare, nu afectează celulele eucariote umane.

Membrana plasmatică (citoplasmatică).

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-15 Comparați și contrastați membranele plasmatice procariote și eucariote.

Membrana plasmatică (citoplasmatică) a celulelor eucariote și procariote este foarte asemănătoare ca funcție și structură de bază. Există, totuși, diferențe între tipurile de proteine găsite în membrane. Membranele eucariote conțin, de asemenea, carbohidrați, care servesc ca locuri de atașare pentru bacterii și ca situsuri receptori care își asumă un rol în funcții precum recunoașterea celulă-celulă. Membranele plasmatice eucariote conțin și steroli, lipide complexe care nu se găsesc în membranele plasmatice procariote (cu excepția celulelor Mycoplasma). Sterolii par să fie asociați cu capacitatea membranelor de a rezista lizei rezultată din creșterea presiunii osmotice.

Substanțele pot traversa membranele plasmatice eucariote și procariote prin difuzie simplă, difuzie facilitată, osmoză sau transport activ. Translocarea grupului nu are loc în celulele eucariote. Cu toate acestea, celulele eucariote pot folosi un mecanism numit endocitoză. Acest lucru se întâmplă atunci când un segment al membranei plasmatice înconjoară o particulă sau o moleculă mare, o înconjoară și o aduce în celulă.

Cele trei tipuri de endocitoză sunt fagocitoza, pinocitoza și endocitoza mediată de receptor. În timpul fagocitozei, proiecțiile celulare numite pseudopode înghiți particulele și le aduc în celulă. Fagocitoza este folosită de celulele albe din sânge pentru a distruge bacteriile și substanțele străine (vezi Figura 16.8, pagina 464 și discuții suplimentare în Capitolul 16). În pinocitoză, membrana plasmatică se pliază spre interior, aducând lichid extracelular în celulă, împreună cu orice substanțe sunt dizolvate în lichid. În endocitoza mediată de receptor, substanțe (liganzi)

se leagă de receptorii din membrană. Când are loc legarea, membrana spune spre interior. Endocitoza mediată de receptor este una dintre modalitățile prin care virușii pot pătrunde în celulele animale (vezi Figura 13.14a, pagina 386).

Citoplasma

OBIECTIV DE ÎNVĂȚARE .

• Comparați și contrastați citoplasmele procariote și eucariote, citoplasma celulelor eucariote cuprinde substanța în interiorul membranei plasmatice și în afara nucleului (vezi Figura 4.22). Citoplasma este substanța în care se găsesc diverse componente celulare. (Termenul citosol se referă la porțiunea fluidă a citoplasmei.) O diferență majoră între citoplasma eucariotă și cea procariotă este că citoplasma eucariotă are o structură internă

complexă, constând din tije extrem de mici (microfilamente și filamente intermediare) și cilindri (microtubuli). Împreună formează citoscheletul. Citoscheletul oferă suport și formă și ajută la transportul substanțelor prin celulă (și chiar la deplasarea întregii celule, ca în fagocitoză). Mișcarea citoplasmei eucariote dintr-o parte a celulei în alta, care ajută la distribuirea nutrienților și la mutarea celulei pe o suprafață, se numește flux citoplasmatic. O altă diferență între citoplasma procariotă și cea eucariotă este că multe dintre enzimele importante găsite în fluidul citoplasmatic al procariotelor sunt sechestrate în organelele eucariotelor.

Ribozomi

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-17 Comparați structura și funcția ribozomilor eucarioți și procarioți.

Atașați de suprafața exterioară a reticulului endoplasmatic rugos (discutat la pagina 102) sunt ribozomi (vezi Figura 4.25), care se găsesc și liberi în citoplasmă. Ca și în cazul procariotelor, ribozomii sunt locurile de sinteză a proteinelor în celulă.

Ribozomii reticulului endoplasmatic eucariotic și citoplasmei sunt oarecum mai mari și mai denși decât cei ai celulelor procariote, acești ribozomi eucarioți sunt ribozomi 80S, fiecare dintre care constă dintr-o subunitate mare 60S care conține trei molecule de ARNr și o subunulă mai mică de ARNr40. Subunitățile sunt realizate separat în nucleol și, odată produse, ies din nucleu și se unesc în citosol. Cloroplastele și mitocondriile conțin ribozomi 70S, care pot indica evoluția lor din procariote. (Această teorie este discutată la pagina 105.) Rolul ribozomilor în sinteza proteinelor va fi discutat mai detaliat în Capitolul 8.

Unii ribozomi, numiți ribozomi liberi, nu sunt atașați de nicio structură în . citoplasma. În primul rând, ribozomii liberi sintetizează proteinele utilizate în interiorul celulei. Alți ribozomi, numiți ribozomi legați de membrană, se atașează de membrana nucleară și de reticulul endoplasmatic. Acești ribozomi sintetizează proteine destinate inserției în membrana plasmatică sau exportului din celulă. Ribozomii localizați în mitocondrii sintetizează mitocondriile! proteine. Uneori, 10 până la 20 de ribozomi se unesc într-un aranjament asemănător unui șir numit poliribozom.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Identificați cel puțin o diferență semnificativă între flagele și cili eucarioți și procarioți, pereții celulari, membranele plasmatice și citoplasmă. 4-13-4-16

Antibioticul eritromicina se leagă de porțiunea 50S a unui ribozom. Ce efect are aceasta asupra unei celule procariote? Pe o celulă eucariotă? 4-17

Organele

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

4-18 Definiți organele.

4-19 Descrieți funcțiile nucleului, reticulului endoplasmatic, complexului Golgi, lizozomilor, vacuolelor, mitocondriilor, cloroplastelor, peroxizomilor și centrozomilor.

Organelele sunt structuri cu forme specifice și joncțiuni specializate și sunt caracteristice celulelor eucariote. Acestea includ nucleul, reticulul endoplasmatic, complexul Golgi, lizozomi, vacuole, mitocondrii, cloroplaste, peroxizomi și centrozomi. Nu toate organelele descrise se găsesc în toate celulele. Anumite celule au propriul lor tip și distribuție de organite bazate pe specializare, vârstă și nivel de activitate.

Nucleul

Cel mai caracteristic organel eucariot este nucleul (vezi Figura 4.22). Nucleul (Figura 4.24) este de obicei sferic sau oval, este frecvent cea mai mare structură din celulă și conține aproape toată informația ereditară (ADN) a celulei. O parte din ADN se găsește și în mitocondrii și în cloroplastele organismelor fotosintetice.

Nucleul este înconjurat de o membrană dublă numită înveliș nuclear. Ambele membrane seamănă ca structură cu membrana plasmatică. Canalele minuscule din membrană numite pori nucleari permit nucleului să comunice cu citoplasma (Figura 4.24b). Porii nucleari controlează mișcarea substanțelor între nucleu și citoplasmă. În interiorul anvelopei nucleare se află unul sau mai multe corpuri sferice numite nucleoli (singular: nucleol). Nucleolii sunt de fapt regiuni condensate ale cromozomilor în care ARN-ul ribozomal este sintetizat. ARN-ul ribozomal este o componentă esențială a ribozomilor.

Nucleul conține, de asemenea, cea mai mare parte din ADN-ul celulei, care este combinat cu mai multe proteine, inclusiv unele proteine de bază numite histone și nonhistone. Combinația de aproximativ 165 de perechi de baze de ADN și 9 molecule de histone este denumită nucleozom. Când celula nu se reproduce, ADN-ul

Ce menține nucleul suspendat în celulă?

iar proteinele sale asociate apar ca o masă filiformă numită cromatină. În timpul diviziunii nucleare, cromatina se înfășoară în corpuri mai scurte și mai groase, numite cromozomi. Cromozomii procarioți nu suferă acest proces, nu au histone și nu sunt închiși într-o înveliș nuclear.

Celulele eucariote necesită două mecanisme elaborate: mitoză și meioză pentru a segrega cromozomii înainte de diviziunea celulară. Niciun proces nu are loc în celulele procariote.

Reticulul endoplasmatic

În citoplasma celulelor eucariote se află reticulul endoplasmatic sau RE, o rețea extinsă de saci sau tubuli membranoși aplatizati, numite cisterne (Figura 4.25). Rețeaua ER este continuă cu anvelopa nucleară (vezi Figura 4.22a).

Majoritatea celulelor eucariote conțin două forme distincte, dar interconectate, de RE, care diferă ca structură și funcție. Membrana ER rugoasă este continuă cu membrana nucleară și de obicei se desfășoară într-o serie de saci turtiți. Suprafața exterioară a ER rugoasă este împânzită cu ribozomi, locurile de sinteză a proteinelor. Proteinele sintetizate de ribozomi care sunt atașați la ER dur intră în cisterne în ER pentru procesare și sortare. În unele cazuri, enzimele din cisterne atașează proteinele de carbohidrați pentru a forma glicoproteine. În alte cazuri, enzimele atașează proteinele la fosfolipide, de asemenea sintetizate de ER brut. Aceste molecule pot fi încorporate în membranele organelelor sau în membrana plasmatică. Astfel, ER brut este o fabrică de sinteză a proteinelor secretoare și a moleculelor membranare.

ER neted se extinde de la ER aspru pentru a forma o rețea de tubuli membranari (vezi Figura 4.25). Spre deosebire de ER rugoasă, ER netedă nu are ribozomi pe suprafața exterioară a membranei sale. Cu toate acestea, ER netedă conține enzime unice care îl fac mai divers din punct de vedere funcțional decât ER brut. Deși nu sintetizează proteine, ER neted sintetizează fosfolipide, la fel ca ER dur. Smooth ER sintetizează, de asemenea, grăsimi și steroizi, cum ar fi estrogenii și testosteronul. În celulele hepatice, enzimele ER netede ajută la eliberarea glucozei în fluxul sanguin și inactivează sau detoxifică medicamentele și alte substanțe potențial dăunătoare (de exemplu, alcoolul). În celulele musculare, ionii de calciu eliberați din reticulul sarcoplasmatic, o formă de ER neted, declanșează procesul de contracție.

Complexul Golgi

Majoritatea proteinelor sintetizate de ribozomi atașați la ER dur sunt transportate în cele din urmă în alte regiuni ale celulei. Primul pas în calea de transport este printr-un organel numit complex Golgi. Este format din 3 până la 20 de cisterne care seamănă cu o stivă de pâine pita (Figura 4.26). Cisternele sunt adesea curbate, dând complexului Golgi o formă de cupă.

Proteinele sintetizate de ribozomi de pe ER aspru sunt înconjurate de o porțiune a membranei ER, care în cele din urmă înmugurește. Pe suprafața membranei pentru a forma o veziculă de transport, vezicula de transport se contopește cu o cisternă din complexul Golgi, eliberând proteinele în cisternă. Proteinele sunt modificate și se deplasează de la o cisternă la alta prin intermediul veziculelor de transfer care înmuguresc de la marginile cisternelor. Enzimele din cisterne modifică proteinele pentru a forma glicoproteine, glicolipide și lipoproteine. Unele dintre proteinele procesate părăsesc veziculele secretoare cisterne, care se desprind din cisternă și livrează proteinele în membrana plasmatică, unde sunt descărcate prin exocitoză. Alte proteine procesate părăsesc cisternele în vezicule care își livrează conținutul în membrana plasmatică pentru încorporare în membrană. În cele din urmă, unele proteine procesate părăsesc cisternele în vezicule numite vezicule de stocare.

Vezicula de stocare majoră este un Ivsosome, a cărui structură și funcții sunt discutate în continuare.

Lizozomi

Lizozomii sunt formați din complexe Golgi și arată ca niște sfere închise de membrană. Spre deosebire de mitocondrii, lizozomii au doar o singură membrană și nu au structură internă (vezi Figura 4.22). Dar conțin până la 40 de tipuri diferite de enzime digestive puternice, capabile să descompună diferite molecule. Mai mult, aceste enzime pot digera și bacteriile care intră în celulă. Globulele albe de 1 lumen, care folosesc fagocitoza pentru a ingera bacterii, conțin un număr mare de lizozomi.

Vacuole

O vacuola (vezi Figura 4.22) este un spațiu sau o cavitate din citoplasma unei celule care este închisă de o membrană numită tonoplastă. În celulele vegetale, vacuolele pot ocupa 5-90% din volumul celulei, în funcție de tipul de celulă. Vacuolele sunt derivate din complexul Golgi și au mai multe funcții diverse. Unele vacuole servesc ca organite de stocare temporară pentru substanțe precum proteinele, zaharurile, acizii organici și ionii anorganici. Alte vacuole se formează în timpul endocitozei pentru a ajuta la aducerea alimentelor în celulă. Multe celule vegetale stochează, de asemenea, deșeuri metabolice și otrăvuri care altfel ar fi dăunătoare dacă s-ar acumula în citoplasmă. În cele din urmă, vacuolele pot prelua apă, permițând celulelor plantei să crească în dimensiune și, de asemenea, oferind rigiditate frunzelor și tulpinilor.

Mitocondriile

Organele sferice sau în formă de baston numite mitocondrie (singular: mitocondrie) apar în citoplasma majorității celulelor eucariote (vezi Figura 4.22). Numărul de mitocondrii per celulă variază foarte mult între diferitele tipuri de celule. De exemplu, protozoarele Giardia nu are mitocondrii, în timp ce celulele hepatice conțin între 1000 și 2000 per celulă. O mitocondrie constă dintr-o membrană dublă similară ca structură cu membrana plasmatică (Figura 4.27). Membrana mitocondrială exterioară este netedă, dar membrana mitocondrială interioară este dispusă într-o serie de pliuri numite cristae (singular: crista). Centrul mitocondrionului este o substanță semifluid numită matrice. Datorită naturii și aranjamentului cristelor, membrana interioară oferă o suprafață enormă pe care pot avea loc reacții chimice. Unele proteine care funcționează în respirația celulară, inclusiv enzima care produce ATP, sunt localizate pe cresta membranei mitocondriale interioare, iar mulți dintre pașii metabolici implicați în respirația celulară sunt concentrați în matrice (vezi (capitolul 5). Mitocondriile sunt adesea numite „centrale de putere ale celulei" datorită rolului lor central în producerea de ATP.

Mitocondriile conțin ribozomi 70S și unele ADN-uri proprii, precum și mașinile necesare pentru a replica, transcrie și traduce informațiile codificate de ADN-ul lor. În plus, mitocondriile se pot reproduce mai mult sau mai puțin pe cont propriu prin creșterea și împărțirea în două.

ER neted și ER dur sunt similare?

Cloroplaste

Algele și plantele verzi conțin un organel unic numit cloroplast (Figura 4.28), o structură închisă în membrană care conține atât clorofila pigmentară, cât și enzimele necesare pentru fazele de adunare a luminii ale fotosintezei (vezi capitolul 5). „Clorofila este conținută în saci de membrană turtiți numiți tilacoizi; stivele de tilacoizi se numesc grana (singular: granum) (vezi Figura 4.28).

(o)

Figura 4.26 Complexul Golgi, (a) Un desen al detaliilor unui complex Golgi, (b) O micrografie a unui complex Golgi.

Transfer vezicule

Cisterne

Vezicula de transport din ER rugoasă

Vezicule secretoare

TEM

Ca și mitocondriile, cloroplastele conțin ribozomi 70S, ADN și enzime implicate în sinteza proteinelor. Sunt capabili să se înmulțească singuri în interiorul celulei. Modul în care se înmulțesc atât cloroplastele, cât și mitocondriile - prin creșterea dimensiunii și apoi împărțirea în două - amintește izbitor de multiplicarea bacteriilor.

Peroxizomii

Organelele asemănătoare ca structură cu lizozomii, dar mai mici, sunt numite peroxizomi (vezi Figura 4.22). Deși odată se credea că peroxizomii se formează prin înmugurirea din ER, acum este de acord în general că se formează prin divizarea peroxizomilor preexistenți.

Peroxizomii conțin una sau mai multe enzime care pot oxida diverse substanțe organice. De exemplu, substanțe precum aminoacizii și acizii grași sunt oxidate în peroxizomi ca parte a metabolismului normal. În plus, enzimele din peroxizomi oxidează substanțele toxice, cum ar fi alcoolul. Un produs secundar al reacțiilor de oxidare este peroxidul de hidrogen (H2O2), un compus potențial toxic. Cu toate acestea, peroxizomii conțin și enzima catalaza, care descompune H2O2 (vezi capitolul 6, pagina 160). Deoarece generarea și degradarea H2O2 are loc în cadrul aceluiași organel, peroxizomii protejează alte părți ale celulei de efectele toxice ale H2O2.

Centrozom

Centrozomul, situat în apropierea nucleului, este format din două componente: zona pericentriolară și centrioli (vezi Figura 4.22). : materialul pericentriolar este o regiune a citosolului compusă dintr-o rețea densă de fibre proteice mici. Această zonă este centrul organizator al fusului mitotic, care joacă un rol critic în diviziunea celulară și pentru formarea microtubulilor în celulele care nu se divizează. În materialul pericentriolar se află o pereche de structuri cilindrice numite centrioli, fiecare dintre ele compusă din nouă grupuri sau trei microtubuli (tripleți) aranjați într-o formă circulară.

Figura 4.28 Cloroplaste. Fotosinteza are loc în cloroplaste; pigmenții care captează lumina sunt localizați pe tilacoizi, (a) Un desen cu detaliile unui cloroplast, care arată grana, (b) O micrografie a cloroplastelor dintr-o celulă vegetală.

Care sunt asemănările dintre cloroplaste și celulele procariote?

model, un aranjament numit matrice 9 + 0. 9 se referă la cele nouă grupuri de microtubuli, iar 0 se referă la absența microtubulilor în centru. Axa lungă a unui centriol este în unghi drept față de axa lungă a celuilalt.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Comparați structura nucleului unei eucariote și a nucleoidului unei procariote. 4-18 .

Cum se compară ER brut și neted din punct de vedere structural și funcțional? 4-19

Evoluția Eucariotelor

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

4-20 Discutați dovezile care susțin teoria endosimbiotică a evoluției eucariote.

Biologii cred în general că viața a apărut pe Pământ sub formă de organisme foarte simple, asemănătoare celulelor procariote, cu aproximativ 3,5 până la 4 miliarde de ani în urmă. Cu aproximativ 2,5 miliarde de ani în urmă, primele celule eucariote au evoluat din celule procariote. Amintiți-vă că procariotele și eucariotele diferă în principal prin faptul că eucariotele conțin organite foarte specializate. Teoria care explică originea eucariotelor din procariote, lansată de Lynn Margulis, este teoria endosimbiotică. Conform acestei teorii, celulele bacteriene mai mari și-au pierdut pereții celulari și au înghițit celulele bacteriene mai mici. Această relație, în care un organism trăiește în cadrul altuia, se numește endosimbioză (simbioză = conviețuire).

Conform teoriei endosimbiotice, eucariotul ancestral a dezvoltat un nucleu rudimentar atunci când membrana plasmatică s-a pliat în jurul cromozomului (vezi Figura 10.2, pagina 275). Această celulă, numită nucleoplasmă, poate avea bacterii aerobe ingerate. Unele bacterii ingerate trăiau în interiorul nucleoplasmei gazdei. Acest aranjament a evoluat într-o relație simbiotică în care nucleoplasma gazdă a furnizat nutrienți, iar bacteria endosimbiotică a produs energie care ar putea fi utilizată de nucleoplasmă. În mod similar, cloroplastele pot fi descendenți ai procariotelor fotosintetice ingerate de această nucleoplasmă timpurie. Se crede că flagelii și cilii eucarioți au provenit din asocieri simbiotice dintre membrana plasmatică a eucariotelor timpurii și bacteriile spirale mobile numite spirochete. Un exemplu viu care sugerează modul în care s-a dezvoltat flagelul este descris în caseta de pe pagina următoare.

Studiile care compară celulele procariote și eucariote oferă dovezi pentru teoria endosimbiotică. De exemplu, atât mitocondriile, cât și cloroplastele seamănă cu bacteriile ca mărime și formă. În plus, aceste organite conțin ADN circular, care este tipic pentru procariote, iar organelele se pot reproduce independent de celula gazdă. Mai mult, ribozomii mitocondriali și cloroplastici seamănă cu cei ai procariotelor, iar mecanismul lor de sinteză a proteinelor este mai asemănător cu cel găsit la bacterii decât eucariote. De asemenea, aceleași antibiotice care inhibă sinteza proteinelor pe ribozomi din bacterii inhibă și sinteza proteinelor pe ribozomi din mitocondrii și cloroplaste.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care trei organele nu sunt asociate cu complexul Golgi? Ce sugerează acest lucru despre originea lor? 4-20

X- X- *

Următoarea noastră preocupare este să examinăm metabolismul microbian. În capitolul 5, veți afla despre importanța enzimelor pentru microorganisme și despre modurile în care microbii produc și folosesc energia.

De ce microbiologii studiază termitele

Deși termitele sunt renumite pentru capacitatea lor de a mânca lemn, provocând deteriorarea structurilor din lemn și reciclând celuloza în sol, nu pot digera lemnul pe care îl mănâncă. Pentru a descompune celuloza, termitele apelează la ajutorul unei varietăți de microorganisme. Unele termite, de exemplu, sapă tuneluri în lemn, apoi inoculează tunelurile cu ciuperci care cresc pe lemn. Aceste termite mănâncă apoi ciupercile, nu lemnul în sine.

Ceea ce microbiologii consideră mai interesant sunt termitele care conțin, în tractul lor digestiv, microorganisme simbiotice care digeră celuloza pe care termitele o mestecă și o înghit. De fapt, aceste microorganisme simbiotice pot supraviețui doar datorită simbioților și mai mici care trăiesc pe și în interiorul lor, fără de care nici măcar nu s-ar putea mișca. Studiind modul în care supraviețuiește o singură termită, microbiologii au început să obțină o înțelegere complet nouă a simbiozei.

Dependența termitei de bacteriile fixatoare de azot pentru a-și furniza azotul și de protozoare precum Irichonympha sphaerica pentru a digera celuloza sunt exemple de endosimbioză, o relație simbiotică cu un organism care trăiește în corpul organismului gazdă (în acest caz, în intestinul posterior al termitei).

Imaginea este mai complicată decât aceasta, totuși, pentru că T sphaerica nu poate digera celuloza fără ajutorul bacteriilor care trăiesc în corpul său: cu alte cuvinte, protozoarul are propriile sale endosimbioți.

Anumite flagelate din intestinul posterior, cum ar fi T. sphaerica, demonstrează, de asemenea, o altă formă de simbioză - ectosimbioza, o relație simbiotică cu organismele care trăiesc în afara corpului său. Progresele în microscopie au arătat că aceste flagelate sunt acoperite de rânduri precise formate din mii de bacterii, fie tije sau spirochete. Dacă aceste bacterii sunt ucise, protozoarul nu se poate mișca. În loc să-și folosească propriile flageli, protozoarele se bazează pe rândurile de bacterii pentru a-l vâsli ca vâslașii într-o barcă.

Protozoarul Mixotricha, de exemplu, are șiruri de spirochete pe suprafața sa (vezi fotografia, dreapta sus). Capătul fiecărei spirochete se sprijină pe o umflătură cunoscută sub

numele de bracket; vezi partea a a figurii. Spirochetele se ondula la unison, creând astfel valuri de mișcare de-a lungul suprafeței Mixotricha.

Bacteriile în formă de baston se aliniază în șanțuri care acoperă suprafața devescovinidelor, un alt grup de protozoare din intestinul posterior al termitelor. Fiecare tijă are 12 flageli care se suprapun pe flagelul bacteriilor adiacente pentru a forma un filament continuu de-a lungul șanțului (vezi partea b). Bacteriile își rotesc flagelii, creând astfel

unde coordonate de-a lungul tuturor acestor rânduri de filamente, care propulsează protozoarul.

Sid Tamm și colegii săi de la Universitatea din Boston au descoperit că protozoarele nu pot controla motilitatea ectosimbioticelor. Mixotricha își folosește flagelul pentru a se direcționa, iar bacteriile împing protozoarele înainte - împingând și fiind împinse de vecinii săi, la fel ca mașinile cu bara de protecție.

Schița de studiu

MasterlngMICROBIOLOGIE

„Este înțelegerea dvs. cu chestionare, revizuire a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Compararea celulelor procariote și eucariote: o prezentare generală (p. 76)

Celulele procariote și eucariote sunt similare în compoziția lor chimică și reacțiile chimice.

Celulele procariote nu au organele închise în membrană (inclusiv un nucleu).

Peptidoglicanul se găsește în pereții celulelor procariote, dar nu și în pereții celulelor eucariote.

Celulele eucariote au un nucleu legat de membrană și alte ganele.

ffl Celula procariotă (pP 76-97)

Bacteriile sunt unicelulare și majoritatea se înmulțesc prin fisiune binară.

Speciile bacteriene se diferențiază prin morfologie, compoziție chimică, cerințe nutriționale, activități biochimice și sursa de energie.

rhe Mărime, formă și aranjament

de celule bacteriene (PP. 77-78)

Majoritatea bacteriilor au un diametru de 0,2 până la 2,0 pm și o lungime de 2 până la 8 urne.

Cele trei forme bacteriene de bază sunt coccus (sferic), bacil (în formă de tijă) și spirală (răsucit).

Bacteriile pleomorfe pot lua mai multe forme.

Structuri externe peretelui celular (pag. 78-84)

Glicocalix (pag. 80)

Glicocalixul (capsula, stratul de slime sau polizaharidă extracelulară) este o polizaharidă gelatinoasă și/sau o acoperire polipeptidică.

Gapsulele pot proteja agenții patogeni de fagocitoză.

Capsulele permit aderența la suprafețe, previn uscarea și pot furniza nutrienți.

Flageli (pag. 81-82)

Flagelii sunt anexe filamentoase relativ lungi care constau dintr-un filament, cârlig și corp bazal.

Flagelii procarioți se rotesc pentru a împinge celula.

Bacteriile mobile prezintă taxiuri; taxiuri pozitive este mișcare spre

un atractant, iar taxiurile negative este îndepărtarea de un repellent.

Proteina flagelară (H) este un antigen.

Filamente axiale (pag. 82)

Celulele spiralate care se deplasează prin intermediul unui filament axial (endoflagel) se numesc spirochete.

Filamentele axiale sunt similare cu flagelii, cu excepția faptului că se înfășoară în jurul celulei.

Fimbriae și Pili (p. 82-84)

Fimbria ajută celulele să adere la suprafețe.

Pili sunt implicați în motilitatea spastică și transferul ADN-ului.

Peretele celular (pag. 84-88)

Compoziție și caracteristici (p. 84-86)

Peretele celular înconjoară membrana plasmatică și protejează celula de modificările presiunii apei.

Peretele celular bacterian este format din peptidoglican, un polimer format din NAG și NAM și lanțuri scurte de aminoacizi.

Penicilina interferează cu sinteza peptidogh'canului.

Pereții celulari gram-pozitivi sunt formați din multe straturi de peptidoglican și conțin, de asemenea, acizi teicoici.

Bacteriile Gram-negative au o membrană exterioară lipopolizaharidă-lipoproteină-fosfolipidă care înconjoară un strat subțire de peptidoglican.

Membrana exterioară protejează celula de fagocitoză și de penicilină, lizozimă și alte substanțe chimice.

Porinele sunt proteine care permit ca moleculele mici să treacă prin membrana exterioară; proteinele specifice canalelor permit altor molecule să se deplaseze prin membrana exterioară.

Componenta lipopolizaharidă a membranei exterioare constă din zaharuri (O polizaharide), care funcționează ca antigene, și lipida A, care este o endotoxină.

Pereții celulari și mecanismul colorației Gram (pag. 86-87)

Complexul cristal violet-iod se combină cu peptidoglicanul.

Decolorantul îndepărtează membrana exterioară lipidă a bacteriilor gramnegative și spălă cristalul violet.

Pereții celulari atipici (pag. 87-88)

Mycoplasma este un gen bacterian căruia îi lipsesc în mod natural pereții celulari.

Arheele au pseudomurein; le lipsesc peptidoglicanul.

Pereții celulari acido-rezistenți au un strat de acid micolic în afara unui strat subțire de peptidoglican.

Deteriorarea peretelui celular (pag. 88)

În prezența lizozimei, pereții celulari gram-pozitivi sunt distruși, iar conținutul celular rămas este denumit protoplast.

În prezența lizozimei, pereții celulari gram-negativi nu sunt complet distruși, iar conținutul celular rămas este denumit sferoplast.

Formele L sunt bacterii gram-pozitive sau gram-negative care nu formează un perete celular.

Antibioticele precum penicilina interferează cu sinteza peretelui celular.

Structuri interne peretelui celular (pag. 88-97)

Membrana plasmatică (citoplasmatică) (pag. 89-90)

Membrana plasmatică cuprinde citoplasma și este un strat dublu lipidic cu proteine periferice și integrale (modelul mozaic fluid).

Membrana plasmatică este permeabilă selectiv.

Membranele plasmatice conțin enzime pentru reacțiile metabolice, cum ar fi descompunerea nutrienților, producerea de energie și fotosinteza.

Mezozomii, pliuri neregulate ale membranei plasmatice, sunt artefacte, nu structuri celulare adevărate.

Membranele plasmatice pot fi distruse de alcooli și polimixine.

Mișcarea materialelor de-a lungul

Membrane (pag. 91-93)

Mișcarea de-a lungul membranei poate fi prin procese pasive, în care materialele se deplasează din zone cu concentrație mai mare în mai mică și nu este cheltuită energie de către celulă.

În difuzie simplă, moleculele și ionii se mișcă până la atingerea echilibrului.

În difuzie facilitată, substanțele sunt transportate de proteinele transportoare prin membrane din zonele cu concentrație mare până la mică.

Osmoza este mișcarea apei din zonele cu concentrație mare spre scăzută printr-o membrană permeabilă selectiv până la atingerea echilibrului.

În transportul activ, materialele se deplasează din zone cu concentrație scăzută în mare de proteine transportoare, iar celula trebuie să cheltuiască energie.

În translocarea grupului, energia este cheltuită pentru a modifica substanțele chimice și a le transporta prin membrană.

Citoplasmă (pag. 94)

Citoplasma este componenta fluidă din interiorul membranei plasmatice.

Citoplasma este în mare parte apă, cu molecule anorganice și organice, ADN, ribozomi și incluziuni.

Nucleoidul (pag. 94)

Nucleoidul conține ADN-ul cromozomului bacterian.

Bacteriile pot conține și plasmide, care sunt molecule circulare de ADN extracromozomial.

Ribozomi (pag. 94)

Citoplasma unei procariote conține numeroși ribozomi 70S; ribozomii constau din ARNr și proteine.

Sinteza proteinelor are loc la ribozomi; poate fi inhibată de anumite antibiotice.

Incluziuni (p. 94-95)

Incluziunile sunt depozite de rezervă găsite în celulele procariote și eucariote.

Printre incluziunile găsite în bacterii se numără granule metacromatice (fosfat anorganic), granule polizaharide (de obicei glicogen sau amidon), incluziuni lipidice, granule de sulf, carboxizomi (ribuloză 1,5-difosfat carboxilază), magnetozomi (Fe_3O_4) și vacuole gazoase.

Endospori (p. 95-97)

Endosporii sunt structuri de repaus formate de unele bacterii; permit supraviețuirea în condiții de mediu nefavorabile.

Procesul de formare a endosporilor se numește sporulare; revenirea unui endospor la starea sa vegetativă se numește germinare.

� Celula eucariotă (PP. 97-106)

Flagella și Cilia (p. 97 -99)

Flagelii sunt puțini și lungi în raport cu dimensiunea celulei; cilii sunt numerosi si scurti.

Flagelii și cilii sunt folosiți pentru motilitate, iar cilii, de asemenea, mută substanțele de-a lungul suprafeței celulelor.

Atât flagelii, cât și cilii constau dintr-un aranjament de nouă perechi și doi microtubuli unici.

Peretele celular și glicocalix (pag. 99)

Pereții celulari ai multor alge și ai unor ciuperci conțin celuloză.

Materialul principal al pereților celulari fungici este chitina.

Pereții celulelor de drojdie sunt formați din glucan și manan.

Celulele animale sunt înconjurate de un glicocalix, care întărește celula și oferă un mijloc de atașare la alte celule.

Membrana plasmatică (citoplasmatică) (pag. 100)

La fel ca membrana plasmatică procariotă, membrana plasmatică eucariotă este un dublu strat fosfolipidic care conține proteine.

Membranele plasmatice eucariote conțin caroohidrați atașați de proteine și steroli care nu se găsesc în celulele procariote (cu excepția bacteriilor Mycoplasma).

Celulele eucariote pot muta materiale prin membrana plasmatică prin procesele pasive utilizate de procariote și prin transport activ și endocitoză (fagocitoză, pinocitoză și endocitoză mediată de receptor).

Citoplasmă (pag. 101)

Citoplasma celulelor eucariote include totul din interiorul membranei plasmatice și din exteriorul nucleului.

Caracteristicile chimice ale citoplasmei celulelor eucariote seamănă cu cele ale citoplasmei celulelor procariote.

Citoplasma eucariotă are un citoschelet și prezintă flux citoplasmatic.

Ribozomi (pag. 101)

Ribozomii 80S se găsesc în citoplasmă sau atașați la reticulul endoplasmatic aspru.

Organele (p. 101-105)

Organelele sunt structuri specializate închise în membrană în citoplasma celulelor eucariote.

„Nucleul, care conține ADN sub formă de cromozomi, este cel mai caracteristic organel eucariot.

Învelișul nuclear este conectat la un sistem de membrane din citoplasmă numit reticul endoplasmatic (ER).

ER oferă o suprafață pentru reacții chimice și servește drept rețea de transport. Sinteza și transportul proteinelor au loc pe ER brut; sinteza lipidelor are loc pe RE neted.

Complexul Golgi este format din saci turtiți numiti cisterne. Funcționează în formarea membranei și secreția de proteine.

Lizozomii sunt formați din complexe Golgi. Acestea stochează enzimele digestive.

Vacuolele sunt cavități închise de membrană derivate din complexul Golgi sau endocitoză. Ele se găsesc de obicei în celulele vegetale care stochează diverse substanțe și oferă rigiditate frunzelor și tulpinilor.

Mitocondriile sunt locurile principale de producere a ATP. Ei

conțin ribozomi 70S și ADN și se înmulțesc prin fisiune binară. ' ' '

Cloroplastele conțin clorofilă și enzime pentru fotosinteză.

La fel ca mitocondriile, ele conțin ribozomi 70S și ADN și se înmulțesc prin fisiune binară.

!0. .. \ arietate de compuşi organici se oxidează în peroxizomi.

Catalaza din peroxizomi distruge H2O2.

11. Centrozomul este format din materialul pericentriolar și centrioli. Centriolii sunt 9 microtubuli tripleți implicați în formarea o! fusul mitotic și microtubuli. ..

hg Evoluția eucariotelor (p. 105)

Conform teoriei endosimbiotice, celulele eucariote au evoluat f; om s\mbidtic procariote care trăiesc în interiorul altor celule procariote.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

1.

lofotric

monotric

peritric

Formarea endosporilor se numește (a) . Este initiat de

. formarea unei noi celule dintr-un endospor se numește

. Acest proces este declanșat de (d) .

C- a 13 Desenați formele bacteriene enumerate în (a), (b) și (c). Apoi desenați formele din (d), (e) și (f), arătând cum sunt condiții speciale pentru a, b și, respectiv, c.

spirala

bacil

coccus

Potriviți structurile din coloana A cu funcțiile lor din coloana B.

TRAGERE n

DESENAȚI-O

Diagramez fiecare dintre următoarele aranjamente flagelare:

amfitric

polar

Explicați cum funcționează colorația Gram pentru a distinge aceste două tipuri de pereți celulari.

De ce penicilina nu are efect asupra majorității celulelor gram-negative?

Cum intră moleculele esențiale în celule prin fiecare perete?

Care perete celular este toxic pentru oameni?

Amidonul este ușor metabolizat de multe celule, dar o moleculă de amidon este prea mare pentru a traversa membrana plasmatică. Cum obține o celulă moleculele de glucoză dintr-un polimer de amidon? Cum transportă celula aceste molecule de glucoză prin membrana plasmatică?

Potriviți caracteristicile celulelor eucariote din coloana A cu funcțiile lor din coloana B.

Coloana A Coloana B

spirochetele

streptobacili

stafilococi

Coloana A Coloana B

Atașarea la suprafețe

Formarea peretelui celular

Motilitatea

Protecție împotriva lizei osmotice

Protecție împotriva fagocitelor

Odihnind

Sinteza proteinelor

Permeabilitatea selectivă

Transfer de material genetic

De ce un endospor este numit o structură de repaus? Ce avantaj este un endospor pentru o celulă bacteriană?

Comparați și comparați următoarele:

difuzie simplă și difuzie facilitată

transport activ și difuzie facilitată

transport activ și translocare de grup

Răspundeți la următoarele întrebări folosind diagramele furnizate, care reprezintă secțiuni transversale ale pereților celulari bacterieni.

o. Care diagramă reprezintă o bacterie gram-pozitivă? Cum poți să spui?

o. peretele celular

b.Endospore

c. Fimbriae

d. Flagelii

e. Glicocalix

f. Pili

g. Membrana plasmatica

h. Ribozomi

o. Material pericentriolar

> b. Cloroplaste

c. Complexul Golgi

d. Lizozomi

e. Mitocondriile

f. Peroxizomii

g. ER dur

Depozitarea enzimelor digestive

Oxidarea acizilor grași

Formarea microtubulilor

Fotosinteză

Sinteza proteinelor

Respirație

Secreție

DĂ-I NUME

10. Dacă?► . Ce grup de microbi este caracterizat de celule care

formează filamente, se reproduc prin spori și au peptidoglican în pereții celulari?

Alegere Multiplă

Care dintre următoarele nu este o caracteristică distinctivă a celulelor procariote?

De obicei au un singur cromozom circular.

Le lipsesc organele închise în membrană.

Au pereți celulari care conțin peptidoglican.

ADN-ul lor nu este asociat cu histonele.

Le lipsește o membrană plasmatică.

Utilizați următoarele opțiuni pentru a răspunde la întrebările 2-4.

Nu va rezulta nicio schimbare; solutia este izotona.

Apa se va muta în celulă.

Apa se va deplasa din celulă.

Celula va suferi liză osmotică.

Zaharoza se va muta în celulă dintr-o zonă cu concentrație mai mare într-una cu concentrație mai mică.

Care afirmație descrie cel mai bine ce se întâmplă atunci când o bacterie grampozitivă este plasată în apă distilată și penicilină?

Care afirmație descrie cel mai bine ce se întâmplă atunci când o bacterie gramnegativă este plasată în apă distilată și penicilină?

Care afirmație descrie cel mai bine ce se întâmplă atunci când o bacterie grampozitivă este plasată într-o soluție apoasă de lizozim și 10% zaharoză?

Care dintre următoarele afirmații descrie cel mai bine ce se întâmplă cu o celulă expusă la polimixine care distrug fosfolipidele?

Într-o soluție izotonă, nu se va întâmpla nimic.

Într-o soluție hipotonă, celula se va liza.

Apa se va muta în celulă.

Conținutul intracelular se va scurge din celulă.

Oricare dintre cele de mai sus s-ar putea întâmpla.

Care dintre următoarele este falsă despre fimbrie?

Sunt compuse din proteine.

Ele pot fi folosite pentru atașare.

Se găsesc pe celulele gram-negative.

Sunt compuse din pilin.

Ele pot fi folosite pentru motilitate.

Care dintre următoarele perechi este nepotrivită?

glicocalix — aderență

pili — reproducere

peretele celular—toxină

perete celular—protecție

membrana plasmatica—transport

Care dintre următoarele perechi este nepotrivită?

granule metacromatice—fosfați stocați

granule de polizaharide—amidon depozitat

incluziuni lipidice—acid poli-Ș-hidroxibutiric

granule de sulf—rezerva de energie7

ribozomi – depozit de proteine

Ai izolat o celulă mobilă, gram-pozitivă, fără nucleu vizibil. Puteți presupune că această celulă are

ribozomi.

mitocondriile.

un reticul endoplasmatic.

un complex Golgi.

toate cele de mai sus

Antibioticul amfotericina B perturbă membranele plasmatice prin combinarea cu steroli; va afecta toate celulele următoare, cu excepția

celule animale.

celule bacteriene gram-negative.

celule fungice.

Celulele micoplasmatice.

celule vegetale.

Gândire critică

1. Cum pot celulele procariote să fie mai mici decât celulele eucariote și să îndeplinească în continuare toate funcțiile vieții?

Cea mai mică celulă eucariotă este alga mobilă Micromonas. Care este numărul minim de organele pe care trebuie să le aibă această algă?

S-au distins două tipuri de celule procariote: bacteriile și arheile. Cum diferă aceste celule unele de altele? Cum se aseamana?

În 1985, o celulă de 0,5 mm a fost descoperită la peștii chirurg și a fost numită Epulopiscium fishelsoni (vezi Figura 11.14 pagina 315). Se presupunea că este un protozoar. În 1993, cercetătorii au stabilit că Epulopiscium era de fapt o bacterie gram-pozitivă. De ce crezi că acest organism a fost identificat inițial ca un protozoar? Ce dovezi ar schimba clasificarea la bacterie?

Când celulele E. coli sunt expuse la o soluție hipertonică, bacteriile produc o proteină transportoare care poate muta K+ (ionii de potasiu) în celulă. Ce valoare are transportul activ de K+, care necesită ATP?

Aplicații clinice

Clostridium botulinum este un anaerob strict; adică este ucis de oxigenul molecular (O2) prezent în aer. Oamenii pot muri de botulism prin consumul de alimente în care crește C. botulinum. Cum supraviețuiește această bacterie pe plantele culese pentru consumul uman? De ce alimentele conservate de acasă sunt cel mai adesea sursa de botulism?

Un copil din South San Francisco s-a bucurat de baie la el acasă din cauza apei colorate portocalii și roșii. Apa nu avea această culoare ruginită la sursă, iar departamentul de apă nu a putut cultiva bacteriile Thiobacillus responsabile de culoarea ruginită de la sursă. Cum au pătruns bacteriile în apa menajeră? Ce structuri bacteriene fac acest lucru posibil?

Culturile vii de Bacillus thuringiensis (Dipel) și B. subtilis (Kodiak) sunt vândute ca pesticide. Ce structuri bacteriene fac posibilă ambalarea și vânzarea acestor bacterii? În ce scop este folosit fiecare produs? (Sugestie: Consultați capitolul 11.)

N

Datorită faptului că sunteți familiarizat cu structura celulelor procariote, putem discuta despre activitățile care permit acestor microbi să prospere. Procesele de susținere a vieții chiar și ale celui mai simplu organism structural implică un număr mare de reacții biochimice complexe. Cele mai multe, deși nu toate, procesele biochimice ale bacteriilor apar și în microbii eucarioți și în celulele organismelor multicelulare, inclusiv a oamenilor. Cu toate acestea, reacțiile care sunt unice pentru bacterii sunt fascinante, deoarece permit microorganismelor să facă lucruri pe care noi nu le putem face. De exemplu, unele bacterii pot trăi din celuloză, în timp ce altele pot trăi din petrol/, prin metabolismul lor, bacteriile

reciclează elemente după ce alte organisme le-au folosit. Încă și alte bacterii pot trăi pe dieta cu substanțe anorganice precum dioxid de carbon, fier, sulf, hidrogen gazos și amoniac. Metabolismul microbian permite unor microorganisme să crească în sau pe corpul uman, așa cum se arată în placa dentară din fotografie. Un exemplu de metabolism bacterian care contribuie la apariția cariilor dentare este discutat în Cazul Clinic.

Acest capitol examinează câteva reacții chimice reprezentative care fie produc energie (reacțiile catabolice), fie folosesc energie (reacțiile anabolice) în microorganisme. Ne vom uita, de asemenea, la modul în care aceste diverse reacții sunt integrate în celulă.

Reacții catabolice și anabolice

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

5-1 Definiți metabolismul și descrieți diferențele fundamentale dintre anabolism și catabolism.

5-2 Identificați rolul ATP ca intermediar între catabolism și anabolism.

Folosim termenul de metabolism pentru a ne referi la suma tuturor reacțiilor chimice dintr-un organism viu. Deoarece reacțiile chimice fie eliberează, fie necesită energie, metabolismul poate fi privit ca un act de echilibrare a energiei. În consecință, metabolismul poate fi împărțit în două clase de reacții chimice: cele care eliberează energie și cele care necesită energie.

În celulele vii, reacțiile chimice reglate de enzime care eliberează energie sunt în general cele implicate în catabolism, descompunerea compușilor organici complecși în compuși mai simpli. Aceste reacții sunt numite reacții catabolice sau degradative. Reacțiile catabolice sunt în general reacții hidrolitice (reacții care folosesc apă și în care legăturile chimice sunt rupte) și sunt exergonice (produc mai multă energie decât consumă). Un exemplu de catabolism apare atunci când celulele descompun zaharurile în dioxid de carbon și apă.

Reacțiile care necesită energie reglate de enzime sunt implicate în principal în anabolism, formarea de molecule organice complexe din altele mai simple. Aceste reacții sunt numite reacții anabolice sau biosintetice. Procesele anabolice implică adesea reacții de sinteză de deshidratare (reacții care eliberează apă) și sunt endergonice (consumă mai multă energie decât produc). Exemple de procese anabolice sunt formarea de proteine din aminoacizi, acizi nucleici din nucleotide și polizaharide din zaharuri simple. Aceste reacții de biosinteză generează materiale pentru creșterea celulelor.

Caz clinic: Mai mult decât un dinte de dulce

Dr. Antonia Rivera este medic stomatolog pediatru în St. Louis, Missouri. Cel mai recent pacient al ei, Micah 'Thompson, în vârstă de 7 ani, tocmai a părăsit cabinetul cu instrucțiuni stricte despre periajul și folosirea aței dentare în mod regulat. Ceea ce îl îngrijorează cel mai

mult pe dr. Rivera este că Micah este al șaptelea pacient săptămâna aceasta care prezintă mai multe carii dentare sau carii. Dr. Rivera este obișnuit să vadă o oarecare creștere a cariilor după Halloween și Paște, dar de ce toți acești copii fac carii în mijlocul verii? Când a fost posibil, ea a vorbit cu fiecare dintre părinții sau bunicii pacientului, dar nimeni nu a observat nimic ieșit din comun în alimentația copiilor.

De ce atât de mulți dintre pacienții Dr. Rivera au mai multe carii dentare? Citiți mai departe pentru a afla.

112

Reacțiile catabolice transferă energie de la molecule complexe la ATP

Figura 5.1 Rolul ATP în cuplarea reacțiilor anabolice și catabolice. Când moleculele complexe sunt separate (catabolism), o parte din energie este transferată și prinsă în ATP, iar restul este eliberată sub formă de căldură. Când moleculele simple sunt combinate pentru a forma molecule complexe (anabol'sm), ATP furnizează energia pentru sinteză și, din nou, o parte de energie este eliberată sub formă de căldură.

Reacțiile catabolice oferă elemente de bază pentru reacțiile anabolice și furnizează energia necesară pentru a conduce reacțiile anabolice. Această cuplare a reacțiilor care necesită energie și cele care eliberează energie este posibilă prin molecula de adenozin trifosfat (ATP). (Puteți revizui structura sa în Figura 2.18, pagina 48.) ATP stochează energia derivată din reacțiile catabolice și o eliberează mai târziu pentru a conduce reacții anabolice și pentru a efectua alte activități celulare. Amintiți-vă din capitolul 2 că o moleculă de ATP constă dintr-o adenină, o riboză și trei grupări fosfat. Când gruparea fosfat terminală este despărțită de ATP, se formează adenozin difosfat (ADP) și se eliberează energie pentru a conduce reacțiile anabolice. Folosind pentru a reprezenta o grupare fosfat reprezintă fosfatul anorganic, care nu este legat de nicio altă moleculă), scriem această reacție după cum urmează:

ATP -> ADP + ©i + energie

Apoi, energia reacțiilor catabolice este folosită pentru a combina ADP și a ©, pentru a resintetiza ATP:

ADP + ©j + energie--* ATP

Astfel, reacțiile anabolice sunt cuplate cu descompunerea ATP, iar reacțiile catabolice sunt cuplate cu sinteza ATP. Acest concept de reacții cuplate este foarte important; veți vedea de ce până la sfârșitul acestui capitol. Deocamdată, ar trebui să știți că compoziția chimică a unei celule vii se schimbă constant: unele molecule sunt descompuse, în timp ce altele sunt sintetizate. Acest flux echilibrat de substanțe chimice și energie menține viața unei celule.

Rolul ATP în cuplarea reacțiilor anabolice și catabolice este prezentat în ig . Doar o parte din energia eliberată în catab

Olismul este de fapt disponibil pentru funcțiile celulare, deoarece o parte din energie este pierdută în mediu sub formă de căldură. Deoarece celula trebuie să folosească energie pentru a menține lumina, are o nevoie continuă de noi surse externe de energie.

Înainte de a discuta despre modul în care celulele produc energie, să luăm în considerare mai întâi principalele proprietăți ale unui grup de proteine implicate în aproape toate reacțiile chimice importante din punct de vedere biologic: enzimele, căile metabolice ale celulei (secvențele de reacții chimice) sunt determinate de enzimele sale, care sunt la rândul lor determinate de structura genetică a celulei. Metabolismul animației igf: Prezentare generală

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Deosebiți catabolismul de anabolism. 5-1

Cum este ATP un intermediar între catabolism și anabolism? 5-2

Enzime

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

5-3 Identificați componentele unei enzime.

5-4 Descrieți mecanismul acțiunii enzimatice.

5-5 Enumerați factorii care influențează activitatea enzimatică.

5-6 Distingeți inhibiția competitivă și cea necompetitivă.

5-7 Definiți ribozima.

Teoria coliziunii

Am indicat în capitolul 2 că reacțiile chimice apar atunci când se formează sau se rup legăturile chimice. Pentru ca reacțiile să aibă loc, atomii, ionii sau moleculele trebuie să se ciocnească. Teoria coliziunii explică modul în care apar reacțiile chimice și modul în care anumiți factori afectează viteza acelor reacții. Baza teoriei coliziunii este că toți atomii, ionii și moleculele se mișcă continuu și, astfel, se ciocnesc continuu unul cu celălalt. Energia transferată de particulele în coliziune le poate perturba structurile electronice suficient pentru a rupe legăturile chimice sau a forma noi legături.

Mai mulți factori determină dacă o coliziune va provoca o reacție chimică: vitezele particulelor care se ciocnesc, energia lor și configurațiile lor chimice specifice. Până la un punct, cu cât viteza particulelor este mai mare, cu atât este mai probabil ca ciocnirea lor să provoace o reacție. De asemenea, fiecare reacție chimică necesită un anumit nivel de energie. Dar chiar dacă particulele care se ciocnesc posedă energia minimă necesară pentru reacție, nu va avea loc nicio reacție decât dacă particulele sunt orientate corect unele spre altele.

Să presupunem că moleculele substanței AB (reactivul) urmează să fie transformate în molecule ale substanțelor A și B (produșii). Într-o populație dată de molecule de substanță AB, la o anumită temperatură, unele molecule posedă relativ puțină energie; majoritatea populației posedă o cantitate medie de energie; iar o mică parte a populației are energie mare. Dacă doar moleculele AB de înaltă energie sunt capabile să reacționeze și să fie convertite în molecule A și B, atunci doar câteva molecule la un moment dat posedă suficientă energie pentru a reacționa într-o coliziune. Energia de coliziune necesară pentru o reacție chimică este energia de activare a acesteia, care este cantitatea de energie necesară pentru a perturba configurația electronică stabilă a oricărei molecule specifice, astfel încât electronii să poată fi rearanjați.

Viteza de reacție - frecvența ciocnirilor care conțin suficientă energie pentru a produce o reacție - depinde de numărul de molecule de reactant la sau peste nivelul energiei de activare. O modalitate de a crește viteza de reacție a unei substanțe este creșterea temperaturii acesteia. Făcând moleculele să se miște mai repede, căldura crește atât frecvența coliziunilor, cât și numărul de molecule. obține energia de activare. Numărul de ciocniri crește și atunci când presiunea este crescută sau când reactanții sunt mai concentrați (deoarece distanța dintre molecule este astfel redusă). În sistemele vii, enzimele măresc viteza de reacție fără a crește temperatura.

Enzime și reacții chimice

Substanțele care pot accelera o reacție chimică fără a fi ele însele modificate permanent se numesc catalizatori. În celulele vii, enzimele servesc ca catalizatori biologici. Ca catalizatori, enzimele sunt specifice. Fiecare acționează asupra unei substanțe specifice, numită substratul enzimei^ (sau substraturi, când există doi sau mai mulți reactanți), și fiecare catalizează o singură reacție. De exemplu, zaharoza (zahărul de masă) este substratul enzimei zaharaze, care catalizează hidroliza zaharozei în glucoză și fructoză.

Ca catalizatori, enzimele accelerează de obicei reacțiile chimice. Molecula de enzimă tridimensională are un situs activ, o regiune care interacționează cu o substanță chimică specifică (vezi Figura 5.4).

Enzima orientează substratul într-o poziție care crește probabilitatea unei reacții. Complexul enzimă-substrat format prin legarea temporară a enzimei și a reactanților permite ca coliziunile să fie mai eficiente și scade energia de activare a reacției (Figura 5.2). Prin urmare, enzima accelerează reacția prin creșterea numărului de molecule AB care ating suficientă energie de activare pentru a reacționa.

Capacitatea unei enzime de a accelera o reacție fără a fi nevoie de o creștere a temperaturii este crucială pentru sistemele vii, deoarece o creștere semnificativă a temperaturii ar distruge proteinele celulare. Funcția crucială a enzimelor este, prin urmare, de a accelera reacțiile biochimice la o temperatură care este compatibilă cu funcționarea normală a celulei.

Specificitatea și eficiența enzimei

Specificitatea enzimelor este posibilă de structurile lor. Enzimele sunt, în general, proteine globulare mari, care variază în greutate moleculară de la aproximativ 10.000 la câteva milioane. Fiecare dintre miile de enzime cunoscute are o formă tridimensională caracteristică cu o configurație specifică a suprafeței ca urmare a structurilor sale primare, secundare și terțiare (vezi Figura 2.15, pagina 45). Configurația unică a fiecărei enzime îi permite să „găsească" substratul corect din numărul mare de molecule diverse din celulă.

fără o enzimă ca catalizator biologic?

Enzimele sunt extrem de eficiente. În condiții optime, ele pot cataliza reacții la viteze de 108 până la IO10 ori (de până la 10 miliarde de ori) mai mari decât cele ale reacțiilor comparabile fără enzime. Numărul de rotație (numărul maxim de molecule de substrat pe care o moleculă de enzimă le transformă în produs în fiecare secundă) este în general între 1 și 10.000 și poate fi de până la 500.000. De exemplu, enzima ADN polimeraza I, care participă la sinteza ADN-ului, are un număr de afaceri de 15, în timp ce enzima lactat dehidrogenază, care elimină atomii de hidrogen din acidul lactic, are un număr de afaceri de 1000.

Multe enzime există în celulă atât în formă activă, cât și în formă inactivă. Rata cu care enzimele comută între aceste două forme este determinată de mediul celular.

Denumirea enzimelor

Numele enzimelor se termină de obicei în -ase. Toate enzimele pot fi grupate în șase clase, în funcție de tipul de reacție chimică pe care o catalizează (Tabelul 5.1). Enzimele din fiecare dintre clasele majore sunt denumite în funcție de tipurile mai specifice de reacții pe care le ajută. De exemplu, clasa numită oxidoreductaze este implicată în reacțiile de oxidare-reducere (descrise pe scurt). Enzimele din clasa oxidoreductazei care elimină hidrogenul dintr-un substrat se numesc dehidrogenaze; cele care adaugă oxigen molecular (O2) se numesc oxidaze. După cum veți vedea mai târziu,

Cum reduce complexul enzimă-substrat energia de activare a reacției?

enzimele dehidrogenaza si oxidaza au denumiri si mai specifice, precum lactat dehidrogenaza si citocrom oxidaza, in functie de substraturile specifice asupra carora actioneaza.

Componente enzimatice

Deși unele enzime constau în întregime din proteine, cele mai multe constau atât dintr-o porțiune proteică, numită apoenzimă, cât și dintr-o componentă neproteică, numită cofactor. Ionii de fier, zinc, magneziu sau calciu sunt exemple de cofactori. Dacă cofactorul este o moleculă organică, se numește coenzimă. Apoenzimele sunt inactive de la sine; ele trebuie activate de cofactori. Împreună, apoenzima și cofactorul formează o holoenzimă sau o enzimă activă întreagă (Figura 5.3). Dacă cofactorul este îndepărtat, apoenzima nu va funcționa.

Coenzimele pot ajuta enzima prin acceptarea atomilor îndepărtați de pe substrat sau prin donarea atomilor solicitați de substrat. Unele coenzime acționează ca purtători de electroni, eliminând electronii din substrat și donându-i altor molecule în reacțiile ulterioare. Multe coenzime sunt derivate din vitamine (Ta le 5.2). Două dintre cele mai importante coenzime în metabolismul celular sunt nicotinamida adenin dinucleotida (NAD+) și nicotinamida adenin dinucleotidă fosfat (NADP+). Ambii compuși conțin derivați ai vitaminei B niacină (acid nicotinic) și ambii funcționează ca purtători de electroni. În timp ce NAD+ este implicat în principal în reacțiile catabolice (de producere a energiei), NADP este implicat în primul rând în reacțiile anabolice (care necesită energie). Coenzimele de flavină, cum ar fi mononucleotida de flavină (FMN) și dinucleotida de flavin adenină (FAD), conțin derivați ai vitaminei B riboflavine și sunt, de asemenea, purtători de electroni. O altă coenzimă importantă, coenzima A (CoA), conține un derivat al acidului pantotenic, o altă vitamină B. Această coenzimă joacă un rol important în sinteza și descompunerea grăsimilor și într-o serie de reacții de oxidare numite ciclu Krebs.

• Vom întâlni toate aceste coenzime în discuția noastră despre metabolism mai târziu în capitol.

După cum sa menționat mai devreme, unii cofactori sunt ioni de metal, inclusiv fier, cupru, magneziu, mangan, zinc, calciu și cobalt. Astfel de cofactori pot ajuta la catalizarea unei reacții prin formarea unei punți între enzimă și un substrat. De exemplu, magneziul (Mg^{2+}) este necesar de multe enzime de fosforilare (enzime care transferă o grupare fosfat de la ATP la alt substrat). Mg^{2+} poate forma o legătură între enzimă și molecula de ATP. Cele mai multe oligoelemente necesare celulelor vii sunt probabil folosite într-un asemenea mod pentru a activa enzimele celulare.

Mecanismul acțiunii enzimatice

Enzimele scad energia de activare a reacțiilor chimice. Secvența generală a evenimentelor în acțiunea enzimei este următoarea (Figura 5.4a):

0 Suprafața substratului intră în contact cu o regiune specifică a suprafeței moleculei de enzimă, numită situs activ.

OA se formează un compus intermediar temporar, numit complex enzimă-substrat.

0 Molecula de substrat este transformată prin rearanjarea atomilor existenți, defalcarea moleculei de substrat sau în combinație cu o altă moleculă de substrat.

■J Ihe moleculele de substrat transformate — produsele reacției — sunt eliberate din molecula de enzimă deoarece nu se mai potrivesc în locul activ al enzimei.

0 Enzima nemodificată este acum liberă să reacționeze cu alte molecule de substrat.

Ca urmare a acestor evenimente, o enzimă accelerează o reacție chimică.

TABELUL 5.2 Vitamine selectate și funcțiile lor coenzimatice

Vitamina

Funcţie

Parte a coenzimei cocarboxilază; are multe funcții, inclusiv metabolismul acidului piruvic

Coenzima din flavoproteine; activ în transferurile de electroni

Parte din molecuia NAD*; activ în transferurile de electroni

Coenzima în metabolismul aminoacizilor

Vitamina B12 (Cianocobalamina) Coenzima (metil cianocobalamidă) implicată în transferul grupărilor metil; activ în aminoacizi

metabolism

Paft de moleculă de coenzimă A; implicate in metabolismul acidului piruvic si lipidelor

Implicat în reacțiile de fixare a dioxidului de carbon și în sinteza acizilor grași

Coenzimă utilizată în sinteza purinelor și pirimidinelor

Necesar pentru sinteze celulare și macromoleculare

Coenzimă utilizată în transportul electronilor (naftochinone și chinone)

Figura 5.4 Mecanismul acțiunii enzimatice, (a) Substratul intră în contact cu locul activ de pe enzimă pentru a forma un complex enzimă-substrat. 6) Substratul este apoi transformat în produse, ® produsele sunt eliberate, iar © enzima este recuperată neschimbată. În exemplul prezentat, transformarea în produse implică o defalcare a substratului în două produse. Totuși, pot apărea și alte transformări.

(b) Stânga: Un model molecular al enzimei din etapa C din partea (a). Locul activ al enzimei poate fi văzut aici ca o canelură pe suprafața proteinei. Dreapta: Pe măsură ce enzima și substratul se întâlnesc în etapa C din partea (a), enzima își schimbă ușor forma pentru a se potrivi mai strâns cu substratul.

După cum sa menționat mai devreme, enzimele au specificitate pentru anumite substraturi. De exemplu, o enzimă specifică poate fi capabilă să hidrolice o legătură peptidică numai între doi aminoacizi specifici. Alte enzime pot hidroliza amidonul, dar nu celuloza; chiar dacă atât amidonul cât și celuloza sunt polizaharide compuse din subunități de glucoză, orientările subunităților din cele două polizaharide diferă. Enzimele au această specificitate deoarece forma tridimensională a locului activ se potrivește oarecum cu substratul, așa cum o lacăt se potrivește cu cheia sa (Figura 5.4b). Totuși, locul activ și substratul sunt flexibile și își schimbă oarecum forma pe măsură ce se întâlnesc pentru a se potrivi mai bine. Substratul este de obicei mult mai mic decât enzima și relativ puțini dintre aminoacizii enzimei formează locul activ.

Un anumit compus poate fi un substrat pentru mai multe enzime diferite care catalizează diferite reacții, astfel încât soarta unui compus depinde de enzima care acționează asupra acestuia. Cel puțin patru enzime diferite pot acționa asupra glucozei 6-fosfat, o moleculă importantă în metabolismul celular, iar fiecare reacție va produce un produs diferit. Animații Enzime: prezentare generală, pași într-o reacție

Factori care influențează activitatea enzimatică

Enzimele sunt supuse diferitelor controale celulare. Două tipuri principale sunt controlul sintezei enzimatice (vezi capitolul 8) și controlul activității enzimatice (cât de multă enzimă este prezentă față de cât de activă este).

Mai mulți factori influențează activitatea unei enzime. Printre cele mai importante sunt temperatura, pH-ul, concentrația substratului și prezența sau absența inhibitorilor.

Temperatură

Viteza majorității reacțiilor chimice crește pe măsură ce temperatura crește. Moleculele se mișcă mai lent la temperaturi mai scăzute decât la temperaturi mai ridicate și, prin urmare, este posibil să nu aibă suficientă energie

Temperatura (°C) >

(a) Temperatura. Activitatea enzimatică (viteza de reacție catalizată de enzimă) crește odată cu creșterea temperaturii până când enzima, o proteină, este denaturată prin căldură și inactivată. În acest moment, viteza de reacție scade brusc.

(c) Concentrația substratului. Odată cu creșterea concentrației de molecule de substrat, viteza de reacție crește până când locurile active de pe toate moleculele de enzimă sunt umplute, moment în care este atinsă viteza maximă de reacție.

Figuie >.5 Factori care influențează activitatea enzimatică, reprezentați grafic pentru ah

enzima actioneaza la 25<? La 45°C? La pH 7?

pentru a provoca o reacție chimică. Pentru reacțiile enzimatice, totuși, creșterea peste o anumită temperatură (temperatura optimă) reduce drastic viteza de reacție (Figura 5.5a). Temperatura optimă pentru majoritatea bacteriilor producătoare de boli din corpul uman este între 35°C și 40°C. Viteza de reacție scade dincolo de temperatura optimă din cauza denaturarii enzimei, a pierderii structurii sale tridimensionale caracteristice (configurație terțiară) (Figura 5.6). Denaturarea unei proteine presupune ruperea legăturilor de hidrogen și a altor legături necovalente; un exemplu obișnuit este transformarea albușului de ou nefiert (o proteină numită albumină) într-o stare întărită prin căldură.

Denaturarea unei enzime modifică aranjarea aminoacizilor în situsul activ, modificându-i forma și determinând enzima să își piardă capacitatea catalitică. În unele cazuri, denaturarea este parțial sau complet reversibilă. Cu toate acestea, dacă denaturarea continuă până când enzima și-a pierdut solubilitatea și se coagulează, enzima nu își poate recăpăta proprietățile inițiale. Enzimele pot fi, de asemenea, denaturate de acizi concentrați, baze, ioni de metale grele (cum ar fi plumbul, arsenul sau mercurul), alcoolul și radiațiile ultraviolete.

PH

Majoritatea enzimelor au un pH optim la care activitatea lor este caracteristic maximă. Peste sau sub această valoare a pH-ului, activitatea enzimatică și, prin urmare, viteza de reacție scad (Figura 5.5b). Când concentrația de 11 (pH) din mediu este modificată drastic, structura tridimensională a proteinei este modificată. Modificările extreme ale pH-ului pot provoca denaturarea. Acizii (și bazele) modifică structura tridimensională a unei proteine, deoarece H+ (și OH") concurează cu hidrogenul și legăturile ionice dintr-o enzimă, ducând la denaturarea enzimei.

Concentrarea substratului

Există o rată maximă la care o anumită cantitate de enzimă poate cataliza o reacție specifică. Numai atunci când concentrația de substrat (substraturi) este extrem de mare poate fi atinsă această rată maximă. În condiții de concentrație mare de substrat, se spune că enzima este în saturație; adică locul său activ este întotdeauna ocupat de molecule de substrat sau produs. În această condiție, o creștere suplimentară a concentrației substratului nu va afecta viteza de reacție deoarece toate site-urile active sunt deja în uz (Figura 5.5c). În condiții celulare normale, enzimele nu sunt saturate cu substrat(i). La un moment dat, multe dintre moleculele de enzimă sunt inactive din lipsă de substrat; astfel, este probabil ca concentrația de substrat să influențeze viteza de reacție.

Inhibitori

O modalitate eficientă de a controla creșterea bacteriilor este controlul enzimelor acestora. Anumite otrăvuri, cum ar fi cianura, arsenul și mercurul, se combină cu enzimele și le împiedică să funcționeze. Ca urmare, celulele nu mai funcționează și mor.

Inhibitorii enzimatici sunt clasificați ca inhibitori competitivi sau necompetitivi (Figura 5.7). Inhibitorii competitivi umplu locul activ al unei enzime și concurează cu substratul normal pentru locul activ. Un inhibitor competitiv poate face acest lucru deoarece forma și structura sa chimică sunt similare cu cele ale substratului normal (Figura 5.7b). Cu toate acestea, spre deosebire de substrat, acesta nu suferă nicio reacție pentru a forma produse. Unii inhibitori competitivi se leagă ireversibil la aminoacizii din situsul activ, prevenind orice interacțiune ulterioară cu substratul. Alții se leagă reversibil, alternativ ocupând și părăsind locul activ; acestea încetinesc interacțiunea enzimei cu substratul. Creșterea concentrației de substrat poate depăși inhibarea competitivă reversibilă. Pe măsură ce situsurile active devin disponibile, mai multe molecule substrat decât molecule inhibitoare competitive sunt disponibile pentru a se atașa la situsurile active ale enzimelor.

Un bun exemplu de inhibitor competitiv este sulfanilamida (un medicament sulfa), care inhibă enzima al cărei substrat normal este acidul para-aminobenzoic (PABA):

PABA este un nutrient esențial utilizat de multe bacterii în sinteza acidului folic, o vitamină care funcționează ca o coenzimă. Când sulfanilamida este administrată bacteriilor, enzima care transformă în mod normal PABA în acid folic se combină în schimb cu sulfanilamida. Acidul folic nu este sintetizat, iar bacteriile nu se pot dezvolta. Deoarece celulele umane nu folosesc PABA pentru a-și produce acidul folic, sulfanilamida poate ucide bacteriile, dar nu dăunează celulelor umane.

Inhibitorii necompetitivi nu concurează cu substratul pentru situsul activ al enzimei; în schimb, ei interacționează cu o altă parte a enzimei (Figura 5.7c). În acest proces, numit inhibiție alosterică („altul spațiu"), inhibitorul se leagă de un loc al enzimei, altul decât locul de legare al substratului, numit situs alosteric. Această legare face ca situl activ să-și schimbe forma, făcându-l nefuncțional. Ca urmare, activitatea enzimei este redusă. Acest efect poate fi fie reversibil, fie ireversibil, în funcție de dacă site-ul activ poate reveni la forma sa inițială. În unele cazuri, interacțiunile alosterice pot activa o enzimă mai degrabă decât să o inhibe. Un alt tip de inhibiție necompetitivă poate opera asupra enzimelor care necesită ioni metalici pentru activitatea lor. Anumite substanțe chimice pot lega sau lega activatorii ioni metalici și astfel pot preveni o reacție enzimatică. Cianura poate lega fierul din enzimele care conțin fier, iar fluorura poate lega calciul sau magneziul. Substanțe precum cianura și fluorura sunt uneori numite otrăvuri enzimatice, deoarece inactivează permanent enzimele. Animații Enzime: inhibiție competitivă, inhibiție necompetitivă

Inhibarea feedback-ului

Inhibitorii alosterici joacă un rol într-un fel de control biochimic numit inhibarea feedback-ului sau inhibarea produsului final. Acest mecanism de control oprește celula să producă mai multă substanță decât are nevoie și, prin urmare, să risipească resursele chimice. În unele reacții metabolice, sunt necesare mai multe etape pentru sinteza unui anumit compus chimic, numit produs final. Procesul este similar cu o linie de asamblare, cu fiecare pas catalizat de o enzimă separată (Figura 5.8). În multe căi anabolice, produsul final poate inhiba alosteric activitatea uneia dintre enzimele de mai devreme în cale. Acest fenomen este inhibiția feedback-ului.

Inhibarea feedback-ului acționează în general asupra primei enzime dintr-o cale metabolică (similar cu închiderea unei linii de asamblare prin oprirea primului lucrător). Deoarece enzima este inhibată, produsul primei reacții enzimatice din cale nu este sintetizat. Pentru că acel produs nesintetizat ar

Substratul

Figura 5.8 Inhibarea feedback-ului.

Explicați diferențele dintre inhibiția competitivă și inhibiția prin feedback.

în mod normal, substratul pentru a doua enzimă din cale, a doua reacție se oprește imediat, „astfel, chiar dacă doar prima enzimă din cale este inhibată, întreaga cale se oprește și nu se formează un produs final nou. Prin inhibarea primei enzime din cale, celula împiedică, de asemenea, să se acumuleze intermediarii metabolici. Pe măsură ce celula utilizează produsul final existent, locul alosteric al primei enzime rămâne mai des nelegat, iar calea își reia activitatea.

Bacteria E. coli poate fi utilizată pentru a demonstra inhibarea feedback-ului în sinteza aminoacidului izoleucinei, care este necesar pentru creșterea celulei. În această cale metabolică, aminoacidul treonina este transformat enzimatic în izoleucină în cinci etape. Dacă izoleucina este adăugată în mediul de creștere pentru E. coli, aceasta inhibă prima enzimă din cale, iar bacteriile nu mai sintetizează izoleucina. Această stare este menținută până la epuizarea aportului de izoleucină. Acest tip de inhibare a feedback-ului este, de asemenea, implicat în reglarea producției de alți aminoacizi de către tavan, precum și vitamine, purine și pirimidine.

Ribozime

Înainte de 1982, se credea că numai moleculele de proteine aveau activitate enzimatică. Cercetătorii care lucrează la microbi au descoperit un tip unic de ARN numit ribozimă. Ca și enzimele proteice, ribozimele funcționează ca catalizatori, au locuri active care se leagă de substraturi și nu sunt utilizate într-o reacție chimică. Ribozimele acționează în mod specific asupra catenelor de ARN prin îndepărtarea secțiunilor și îmbinarea pieselor rămase. În acest sens, ribozimele sunt mai restrânse decât enzimele proteice în ceea ce privește diversitatea substraturilor cu care interacționează.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce este o coenzimă? 5-3

P* De ce este importantă specificitatea enzimei? 5-4

P Ce se întâmplă cu o enzimă sub temperatura optimă?**

Peste temperatura optimă? 5-5

De ce este inhibiția feedback-ului o inhibiție necompetitivă? 5-6 Ce este o ribozimă? 5-7

Producția de energie

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

5-8 Explicați termenul de oxidare-reducere.

5-9 Enumerați și oferiți exemple de trei tipuri de reacții de fosforilare care generează ATP.

5-1C Explicați funcția generală a căilor metabolice.

Moleculele nutritive, ca toate moleculele, au energie asociată cu electronii care formează legături între atomii lor. Când este răspândită în întreaga moleculă, această energie este dificil de utilizat de către celulă. Cu toate acestea, diferite reacții în căile catabolice concentrează energia în legăturile ATP, care servește ca un purtător de energie convenabil. ATP este denumit în general legături „de înaltă energie". De fapt, un termen mai bun este probabil obligațiunile instabile. Deși cantitatea de energie din aceste legături nu este excepțional de mare, ea poate fi eliberată rapid și ușor. Într-un fel, ATP este similar cu un lichid foarte inflamabil, cum ar fi kerosenul. Deși un buștean mare ar putea arde în cele din urmă pentru a produce mai multă căldură decât o cană de kerosen, kerosenul este mai ușor de aprins și oferă căldură mai rapid și mai convenabil. Într-un mod similar, legăturile instabile „de înaltă energie" ale ATP oferă celulei energie ușor disponibilă pentru reacțiile anabolice.

Înainte de a discuta căile catabolice, vom lua în considerare două aspecte generale ale producției de energie: conceptul de oxidare-reducere și mecanismele de generare a ATP.

Reducere

AB A oxidat î redus

Oxidare

Figura 5.9 Oxido-reducerea. Un electron este transferat de la molecula A la molecula B. În acest proces, molecula A este oxidată, iar molecula B este redusă.

Cum diferă oxidarea și reducerea?

Reacții de oxidare-reducere

Oxidarea este îndepărtarea electronilor (e") dintr-un atom sau moleculă, o reacție care produce adesea energie. Figura 5.9 prezintă un exemplu de oxidare în care molecula A pierde un electron în molecula B. Molecula A a suferit oxidare (însemnând că a pierdut unul sau mai mulți electroni), în timp ce molecula B a suferit o reducere sau mai mulți electroni. Reacțiile de oxidare și de reducere sunt întotdeauna cuplate, cu alte cuvinte, de fiecare dată când o substanță este oxidată, o alta este simultan redusă.

În multe oxidări celulare, electronii și protonii (ionii de hidrogen, H+) sunt îndepărtați în același timp; aceasta este echivalentă cu îndepărtarea atomilor de hidrogen, deoarece un atom de hidrogen este format dintr-un proton și un electron (vezi Tabelul 2.2, pagina 28). Deoarece majoritatea oxidărilor biologice implică pierderea atomilor de hidrogen, ele sunt

numite și reacții de dehidrogenare. Figura 5.10 prezintă un exemplu de oxidare biologică. O moleculă organică este oxidată prin pierderea a doi atomi de hidrogen, iar o moleculă de NAD'1' este redusă. Amintiți-vă din discuția noastră anterioară despre coenzime că NAD+ ajută enzimele acceptând atomii de hidrogen îndepărtați din substrat, în acest caz molecula organică. După cum se arată în Figura 5.10, NAD+ acceptă doi electroni și un proton. Un proton (H+) rămâne și este eliberat în mediul înconjurător. Coenzima redusă, NADH, conține mai multă energie decât NAD+. Această energie poate fi folosită pentru a genera ATP în reacțiile ulterioare.

Un punct important de reținut despre reacțiile biologice de oxidare-reducere este faptul că celulele le folosesc în catabolism pentru a extrage

*Termenii nu par logici până când nu luăm în considerare istoria descoperirii acestor reacții. Când mercurul este încălzit, el câștigă în greutate pe măsură ce se formează oxidul de mercur: aceasta a fost numită oxidare. Mai târziu s-a stabilit că mercurbul a pierdut de fapt electroni, iar câștigul observat în oxigen a fost un rezultat direct al acestui lucru. Prin urmare, oxidarea este o pierdere de electroni, iar reducerea este un câștig de electroni, dar câștigul și pierderea de electroni nu sunt de obicei evidente, deoarece ecuațiile reacțiilor chimice sunt de obicei scrise. De exemplu, în ecuațiile pentru respirația aerobă de la pagina 130, observați că fiecare carbon din glucoză a avut inițial un singur oxigen, iar mai târziu, ca dioxid de carbon, fiecare carbon are acum doi oxigeni. Cu toate acestea, câștigul sau pierderea de electroni de fapt responsabil pentru acest lucru nu este evidentă.

energie din moleculele nutritive. Celulele preiau nutrienți, dintre care unii servesc drept surse de energie, și se degradează, adică compuși foarte redusi (cu mulți atomi de hidrogen) în compuși puternic oxidați. De exemplu, atunci când o celulă oxidează o moleculă de glucoză ($C_6H_{12}O_6$) în CO_2 și H_2O, energia din molecula de glucoză este îndepărtată în treptat și în cele din urmă este prinsă de ATP, care poate servi ca sursă de energie pentru reacțiile care necesită energie. Compușii precum glucoza care au mulți atomi de hidrogen sunt compuși foarte redusi, care conțin o cantitate mare de energie potențială. Astfel, glucoza este un nutrient valoros pentru organisme. Animație Reacții de oxidare-reducere

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

jX De ce este glucoza o moleculă atât de importantă pentru organisme? 5-8

Generarea de ATP

O mare parte din energia eliberată în timpul reacțiilor de oxidare-reducere este prinsă în interiorul celulei prin formarea de ATP. Mai exact, o grupare fosfat anorganică, ©j, este adăugată la ADP cu aportul de energie pentru a forma ATP:

ADP
t A \

Adenozina — ©~© + Energie + ©.—►

. Adenozina—©~©~©

v v)

ATP

Simbolul ~ desemnează o legătură „de înaltă energie”, adică una care poate fi ruptă cu ușurință pentru a elibera energie utilizabilă. Legătura de înaltă energie care atașează a treia © într-un sens conține energia stocată în această reacție. Când acest © este îndepărtat, energia utilizabilă este eliberată. Adăugarea de T la un compus chimic se numește fosforilare. Organismele folosesc trei mecanisme de fosforilare pentru a genera ATP din ADP.

Fosforilarea la nivel de substrat

În fosforilarea la nivel de substrat, ATP este de obicei generat atunci când o energie înaltă © este transferată direct de la un compus fosforilat (un substrat) la ADP. În general, © și-a dobândit energia în timpul unei reacții anterioare în care substratul însuși a fost oxidat. Următorul exemplu arată doar scheletul de carbon și 1 o un substrat tipic:



C—C—C ~ (? + ADP -> C—C—C + ATP

Fosforilarea oxidativă

în fosforilarea oxidativă, electronii sunt transferați de la compuși organici la un grup de purtători de electroni (de obicei io NAD și FAD). Apoi, electronii trec prin a

sefii de diferiți purtători de electroni către molecule de oxigen (O2) sau alte molecule anorganice și organice oxidate. Acest proces are loc în membrana plasmatică a procariotelor și în membrana mitocondrială interioară a eucariotelor. Secvența purtătorilor de electroni utilizată în fosforilarea oxidativă se numește lanț (sistem) de transport de electroni (vezi Figura 5.14). Transferul de electroni de la un purtător de electroni la altul eliberează energie, dintre care o parte este folosită pentru a genera ATP din ADP printr-un proces numit chemiosmoză, care va fi descris la pagina 128.

Fotofosforilarea

Al treilea mecanism de fosforilare, fotofosforilarea, are loc numai în celulele fotosintetice, care conțin pigmenți care captează lumina, cum ar fi clorofilele. În fotosinteză, moleculele organice, în special zaharurile, sunt sintetizate cu energia luminii din blocurile de construcție sărace energetic, dioxid de carbon și apă. Fotofosforilarea începe acest proces prin conversia energiei luminoase în energia chimică a ATP și NADPH, care, la rândul lor, sunt folosite pentru a sintetiza molecule organice. Ca și în fosforilarea oxidativă, este implicat un lanț de transport de electroni.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Subliniază cele trei moduri în care este generat ATP. 5-9

Căile metabolice de producere a energiei Organismele eliberează și stochează energia din moleculele organice printr-o serie de reacții controlate, mai degrabă decât într-o singură explozie. Dacă energia ar fi eliberată dintr-o dată, ca o cantitate mare de căldură, ea nu ar putea fi folosită cu ușurință pentru a conduce reacții chimice și, în tact, ar deteriora celula. Pentru a extrage energia din compușii organici și a o stoca sub formă chimică, organismele trec electroni de la un compus la altul printr-o serie de reacții de oxidare-reducere.

După cum sa menționat mai devreme, o secvență de reacții chimice catalizate enzimatic care apar într-o celulă este numită cale metabolică. Mai jos este o cale metabolică ipotetică care transformă materia primă A în produsul final F într-o serie de cinci pași:

Primul pas este conversia moleculei A în molecula B. Săgeata curbată indică faptul că reducerea coenzimei NAD4 la NADH este cuplată cu acea reacție; electronii și protonii provin din molecula A. În mod similar, cele două săgeți din 0 arată o cuplare a două reacții. Pe măsură ce C este convertit în D, ADP este convertit în ATP; energia necesară provine din C pe măsură ce se transformă în i). Reacția de conversie a lui D în E este ușor reversibilă, așa cum este indicat de săgeata dublă. În a cincea etapă, săgeata curbată care duce de la o| indică faptul că O2 este un reactant. Săgețile curbe care duc la CO2 și H2O indică faptul că aceste substanțe sunt produse secundare produse în reacție, pe lângă F, produsul final care (probabil) ne interesează cel mai mult. Produsele secundare precum CO2 și H2O prezentate aici sunt uneori numite produse secundare sau produse reziduale. Rețineți că aproape fiecare reacție dintr-o cale metabolică este catalizată de o enzimă specifică; uneori numele enzimei este imprimat lângă săgeată.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care este scopul căilor metabolice? 5-10

Catabolismul carbohidraților

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

5-11 Descrieți reacțiile chimice ale glicolizei.

5-12 Identificați funcțiile pnosfatului de pentoză și căilor Entner-Doudoroff.

5-13 Explicați produsele ciclului Krebs.

5-14 Descrieți modelul chemiosmotic pentru generarea de ATP.

5-15 Comparați și contrastați respirația aerobă și anaerobă.

5-16 Descrieți reacțiile chimice ale fermentației și enumerați câțiva produși ai fermentației.

Majoritatea microorganismelor oxidează carbohidrații ca sursă principală de energie celulară. Catabolismul carbohidraților, descompunerea moleculelor de carbohidrați pentru a produce energie, are, prin urmare, o mare importanță în metabolismul celular. Glucoza este cea mai comună sursă de energie de carbohidrați folosită de celule. De asemenea, microorganismele pot cataboliza diverse lipide și proteine pentru producerea de energie (pagina 133).

Pentru a produce energie din glucoză, microorganismele folosesc două procese generale: respirația celulară și fermentația. (În discuția despre respirația celulară, ne referim frecvent la proces pur și simplu ca respirație, dar nu trebuie confundat cu respirația.) Atât respirația celulară, cât și fermentația încep de obicei cu același prim pas, glicoliză, dar urmează căi ulterioare diferite (Figura 5.11). Înainte de a examina detaliile glicolizei, respirației și fermentației, vom analiza mai întâi o prezentare generală a proceselor.

După cum se arată în Figura 5.11, respirația glucozei are loc de obicei în trei etape principale: glicoliză, ciclul Krebs și lanțul de transport de electroni (sistem).

® Glicoliza este oxidarea glucozei la acid piruvic cu

producția de ATP și NADH care conține energie. 0 Ciclul Krebs este oxidarea acetil-CoA (un derivat

de acid piruvic) la dioxid de carbon, cu producția de ATP, NADH care conține energie și un alt purtător de electroni redus, FADH2 (forma redusă de flavin adenin dinucleotide).

0 În lanțul de transport de electroni (sistem), NADH și FADH2 sunt oxidați, contribuind cu electronii pe care i-au transportat de pe substraturi la o „cascade” de reacții de oxidare-reducere care implică o serie de purtători de electroni suplimentari. Energia din aceste reacții este folosită pentru a genera o cantitate considerabilă de ATP. În respirație, cea mai mare parte a ATP este generată în a treia etapă.

Deoarece respirația implică o serie lungă de reacții de oxidare-reducere, întregul proces poate fi considerat ca implicând un flux de electroni de la molecula de glucoză bogată în energie către moleculele de CO2 și H2O relativ sărace în energie. Cuplarea producției de ATP la acest flux este oarecum analogă cu producerea de energie electrică prin utilizarea energiei dintr-un curent care curge. Purtând analogia mai departe, vă puteți imagina o linie care curge pe o pantă ușoară în timpul glicolizei și ciclului Krebs, furnizând energie pentru a învârti două roți hidraulice de modă veche. Apoi, fluxul se repezi pe o pantă abruptă în lanțul de transport de electroni, furnizând energie pentru o centrală mare modernă. În mod similar, glicoliza și ciclul Krebs generează o cantitate mică de ATP și furnizează, de asemenea, electronii care generează o cantitate mare de ATP în stadiul lanțului de transport de electroni.

De obicei, etapa inițială a fermentației este și glicoliza (Figura 5.11). Cu toate acestea, odată ce a avut loc glicoliza, acidul piruvic este transformat în unul sau mai mulți produse diferite, în funcție de tipul de celulă. Aceste produse pot include alcool (etanol) și acid lactic. Spre

deosebire de respirație, nu există un ciclu Krebs sau un lanț de transport de electroni în fermentație. În consecință, randamentul ATP, care provine numai din glicoliză, este mult mai mic.

Glicoliza

Glicoliza, oxidarea glucozei la acid piruvic, este de obicei prima etapă în catabolismul carbohidraților. Majoritatea microorganismelor folosesc această cale; de fapt, apare în majoritatea celulelor vii.

Glicoliza mai este numită și calea Embden-Meyerhof. Cuvântul glicoliză înseamnă divizarea zahărului și exact asta se întâmplă. Enzimele glicolizei catalizează scindarea glucozei, un zahăr cu șase atomi de carbon, în două zaharuri cu trei atomi de carbon. Aceste zaharuri sunt apoi oxidate, eliberând energie, iar atomii lor sunt rearanjați pentru a forma două molecule de acid piruvic. În timpul glicolizei, NAD+ este redus la NADH și există o producție netă a două molecule de ATP prin fosforilarea la nivel de substrat. Glicoliza nu necesită oxigen; poate apărea indiferent dacă este prezent sau nu oxigen. Această cale este o serie de zece reacții chimice, fiecare catalizată de o enzimă diferită. Pașii sunt subliniați în Figura 5.12; vezi, de asemenea, Figura A.2 din Anexa A pentru o reprezentare mai detaliată a glicolizei.

Pentru a rezuma procesul, glicoliza constă din două etape de bază, o etapă pregătitoare și o etapă de conservare a energiei:

În primul rând, în etapa pregătitoare (pașii ©-0 din Figura 5.12),

două molecule de ATP sunt utilizate ca o moleculă de glucoză cu șase atomi de carbon este fosforilată, restructurată și împărțită în doi compuși cu trei atomi de carbon: gliceraldehidă 3-fosfat (GP) și dihidroxiacetonă fosfat (DHAP). (3 DHAP este ușor convertit în GP. (Poate să apară și reacția inversă.) Conversia DHAP în GP înseamnă că din acest moment în glicoliză, două molecule de GP sunt alimentate în reacțiile chimice rămase.

În etapa de conservare a energiei (pașii 0-©), cele două molecule de trei atomi de carbon sunt oxidate în mai multe etape la două molecule de acid piruvic. În aceste reacții, două molecule de NAD sunt reduse la NADH și patru molecule de ATP sunt formate prin fosforilarea la nivel de substrat.

O privire de ansamblu asupra respirației și fermentației

fermentație prin respirație

. Glicoliza produce ATP și reduce NAD+ la NADH în timp ce se oxidează

: glucoză la acid piruvic. În respirație,

Acidul piruvic J este transformat: în primul reactant din ciclul Krebs, acetil CoA.

Acetil CoA

Acid piruvic (sau derivat)

Ciclul Krebs; produce ceva ATP prin . fosforilarea la nivel de substrat, reduce purtătorii de electroni NAD^+ și FAD. și emite CO_2. Transportatorii din ambele ; glicoliza și ciclul lui Krebs donează electroni lanțului de transport de electroni.”

În fermentație, acidul piruvic și electronii transportați de NADH din glicoliză sunt încorporați în produsele finale ale fermentației.

Glicoliza

Glucoză

acid piruvic

NADH •

Electronii

' În lanțul de transport de electroni, energia lui

■ electronii este obișnuit să

' produc o cantitate mare de ! ATP prin fosforilare oxidativă.

NADH și FADH.,

fadh2

Lanțul de transport de electroni și chemiosmoza

Ciclul Krebs

NADH

drojdie de bere

CONCEPTE-CHEIE

Formarea produselor finale de fermentație

Pentru a produce energie din

glucoza, microbii folosesc doua procese generale: respiratia si fermentatia. Ambele încep de obicei cu glicoliză, dar urmează căi ulterioare diferite, în funcție de disponibilitatea oxigenului.

O versiune mică a acestei figuri generale va fi inclusă în alte figuri de-a lungul capitolului

! indicați relațiile diferitelor reacții cu procesele generale de respirație și fermentație.

Deoarece au fost necesare două molecule de ATP pentru a începe glicoliza și patru molecule de ATP sunt generate de proces, există un câștig net de două molecule de ATP pentru fiecare moleculă de glucoză care este oxidată. Animații Glicoliza: prezentare generală, pași

Alternative la glicoliză

Multe bacterii au o altă cale în plus față de glicoliză pentru oxidarea glucozei. Cea mai comună alternativă este calea pentozelor fosfat; o altă alternativă este calea Entner-Doudoroff.

Calea Pentozei Fosfatului

Calea pentozo-fosfatului (sau șuntul hexozo-monofosfat) funcționează simultan cu glicoliza și oferă un mijloc pentru descompunerea zaharurilor cu cinci atomi de carbon (pentoze), precum și a glucozei (a se vedea figura A.3 din apendicele A pentru mai multe informații).

pregătitoare

i

Glucoză

J

Glucoză 6-fosfat

Fructoza 6-fosfat

Fructoză 1,6-difosfat

2 NAD+

acid 3-fosfoglicerić

acid 2-fosfogliceric

Acetil CoA

Fermentaţie

! RESPIRAŢIA /j1; ' f ERMENTAȚ'O^T'^]

Glicoliza

glut'

Krebs

ciclu

NADH

N / A -

£ ' Glucoza intră în celulă şi este fosforilată. Este investită o moleculă de ATP. Produsul este glucoză 6-fosfat

Glucoza 6-fosfat este rearanjată pentru a forma fructoză 6-fosfat.

0 © de la un alt ATP este folosit pentru a produce fructoză 1,6-difosfat, încă un compus cu șase atomi de carbon. (Rețineți investiția totală a două molecule de ATP până în acest punct.)

Q O enzimă scindează (împarte) zahărul în două molecule cu trei atomi de carbon: dihidroxiacetonă fosfat (DHAP) și gliceraldehidă 3-fosfat (GP).

Dihidroxiacetonă fosfat (DHAP)

Etapa de conservare a energiei

— .   DHAP este ușor convertit în GP (revers

Poate apărea și acțiunea gliceraldehidei 3-fosfat).

(GP)

acid 1,3-difosfogliceric

Acid fosfoenolpiruvic (PEP)

0 Următoarea enzimă transformă fiecare GP într-un alt compus cu trei atomi de carbon, acid 1,3-difosfogliceric. Deoarece fiecare moleculă de DHAP poate fi convertită în GP și fiecare GP în acid 1,3-difosfogliceric, rezultatul sunt două molecule de acid 1,3-difosfogliceric pentru fiecare moleculă inițială de glucoză. GP este oxidat prin transferul a doi atomi de hidrogen la NAD+ pentru a forma NADH. Enzima cuplează această reacție cu crearea unei legături de înaltă energie între zahăr și un ©. Zaharul cu trei atomi de carbon are acum două grupe ©.

? Energia înaltă © este mutată în ADP, formând ATP, prima producție de ATP din glicoliză. (De la divizarea zahărului în pasul 4, toate produsele sunt dublate. Prin urmare, acest pas rambursează de fapt investiția anterioară a două molecule de ATP.)

0 O enzimă relocă restul © de acid 3-fosfogliceric pentru a forma acid 2-fosfogliceric în pregătirea pentru următoarea etapă.

0 Prin pierderea unei molecule de apă, acidul 2-fosfogliceric este transformat în acid fosfoenolpiruvic (PEP). În acest proces, legătura de fosfat este îmbunătățită la o legătură de înaltă energie.

© Acest Q de înaltă energie este transferat de la PEP la ADP, formând ATP. Pentru fiecare glucoză inițială

(leculă, rezultatul acestui pas este două molecule de ATP și două molecule de compus cu trei atomi de carbon numit acid piruvic.

Figura 5.12 O schiță a reacțiilor de glicoliză (calea Embden-Meyerhof). Insertul indică relația dintre glicoliză și procesele generale de respirație și fermentație. O versiune mai detaliată a glicolizei este prezentată în Figura A.2 din Anexa A

Ce este glicoliza?

reprezentare detaliată a căii pentozo-fosfatului). O caracteristică cheie a acestei căi este că produce pentoze intermediare importante utilizate în sinteza (1) acizilor nucleici, - glucoză și dioxid de carbon în fotosinteză și (3) aminoacizi. Calea” este un producător important al coenzimei reduse NADPH din NADP+. Calea pentozei fosfat produce un câştig net de doar o moleculă de A i P pentru fiecare moleculă de glucoză oxidată. Bacteriile care folosesc calea fosfatului I cntozei includ Bacillus subtilis (sub'til-us), E. coli, Leuconostoc mesenteroides (lii-ko-nos'tok mes-en-teroi'dez) și Enterococcus faecalis (fe-kăl'is).

Calea Entner-Doudoroff

. Din fiecare moleculă de glucoză, calea Entner-Doudoroff produce două molecule de NADPH și o moleculă de ATP pentru utilizare în reacțiile de biosinteză celulară (vezi Figura A.4 din Anexa A pentru o reprezentare mai detaliată). Bacteriile care au enzimele pe calea F.ntner-Doudoroff pot metaboliza glucoza fără glicoliză sau calea pentozei fosfatului. Calea Entner-Doudoroff se găsește în unele bacterii gram-negative, inclusiv Rhizobium, Pseudomonas (su-do-mo'nas) și Agrobacterium (ag-ro-bak-ti're-um); nu se găsește în general printre bacteriile giam-pozitive. Testele pentru capacitatea de a oxida glucoza prin această cale sunt uneori folosite pentru a identifica Pseudomonas în laboratorul clinic.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

P Ce se întâmplă în timpul etapelor pregătitoare și de conservare a energiei ale glicolizei? 5-11*

P" Care este valoarea căilor de pentoză fosfat și Entner-Doudoroff dacă produc o singură moleculă de ATP? 5-12

Respirația celulară

După ce glucoza a fost descompusă în acid piruvic, acidul piruvic poate fi canalizat în următoarea etapă fie a fermentației (pagina 130) fie a respirației celulare (vezi Figura 5.11). Respirația celulară, sau pur și simplu respirația, este definită ca un proces generator de AlP în care moleculele sunt oxidate, iar acceptorul final de electroni este (aproape întotdeauna) o moleculă anorganică. O caracteristică esențială a respirației este funcționarea unui lanț de transport de electroni.

„Eu aici sunt două tipuri de respirație, în funcție de dacă un organism este un aerob, care folosește oxigen, sau un anaerob, care nu folosește oxigen și poate chiar să fie ucis de acesta. În respirația aerobă, acceptorul final de electroni este O2; în respirația anaerobă, acceptorul final de electroni este o moleculă anorganică, alta decât O2 sau, rar, o moleculă organică. Mai întâi vom descrie respirația așa cum apare de obicei într-o celulă aerobă.

Respirație aerobă

i: „Ciclul Krebs Ciclul Krebs, numit și ciclul tricarboxilic adaos (A) sau ciclul acidului citric, este o serie de reacții biochimice în care cantitatea mare de energie chimică potențială

stocată în acetil CoA este eliberată pas cu pas (vezi Figura 5.11). în principal' NAD+ Derivații acidului piruvic sunt oxidaţi;

Acidul piruvic, produsul glicolizei, nu poate intra direct în ciclul Krebs. Într-o etapă pregătitoare, trebuie să piardă o moleculă de CO2 și să devină un compus cu două atomi de carbon (Figura 5.13, în partea de sus). Acest proces se numește decarboxilare. Compusul cu două atomi de carbon, numit grup acetil, se leagă de coenzima A printr-o legătură de înaltă energie; complexul rezultat este cunoscut ca acetil coenzima A (acetil CoA). În timpul acestei reacții, acidul piruvic este, de asemenea, oxidat, iar NAD+ este redus la NADH.

Amintiți-vă că oxidarea unei molecule de glucoză produce două molecule de acid piruvic, astfel încât pentru fiecare moleculă de glucoză, în această etapă pregătitoare sunt eliberate două molecule de CO2, sunt produse două molecule de NADH și se formează două molecule de acetil CoA. Odată ce acidul piruvic a suferit decarboxilare și derivatul său (grupul acetil) s-a atașat la CoA, acetil CoA rezultat este gata să intre în ciclul Krebs.

Pe măsură ce acetil CoA intră în ciclul Krebs, CoA se desprinde din grupa acetil. Gruparea acetil cu doi atomi de carbon se combină cu un compus cu patru atomi de carbon numit acid oxaloacetic pentru a forma acidul citric cu șase atomi de carbon. Această reacție de sinteză necesită energie, care este furnizată de scindarea legăturii de înaltă energie dintre gruparea acetil și CoA. Formarea acidului citric este astfel primul pas în ciclul Krebs. Reacțiile chimice majore ale acestui ciclu sunt prezentate în Figura 5.13; o reprezentare mai detaliată a ciclului Krebs este oferită în Figura A.5 din Anexa A. Rețineți că fiecare reacție este catalizată de o enzimă specifică.

Reacțiile chimice ale ciclului Krebs se încadrează în mai multe categorii generale; una dintre acestea este decarboxilarea. De exemplu, în etapa @ acidul izocitric, un compus cu șase atomi de carbon, este decarboxilat la compusul cu cinci atomi de carbon numit acid a-cetoglutaric. O altă decarboxilare are loc în etapa 0. Deoarece o decarboxilare a avut loc în etapa pregătitoare și două în ciclul Krebs, toți cei trei atomi de carbon din acidul piruvic sunt eliberați în cele din urmă ca CO2 de către ciclul Krebs. Aceasta reprezintă conversia în CO2 a tuturor celor șase atomi de carbon conținuți în molecula originală de glucoză.

O altă categorie generală de reacții chimice ale ciclului Krebs este oxido-reducerea. De exemplu, în etapa @, doi atomi de hidrogen se pierd în timpul conversiei acidului izocitric cu șase atomi de carbon într-un compus cu cinci atomi de carbon. Cu alte cuvinte, compusul cu șase atomi de carbon este oxidat. Atomii de hidrogen sunt, de asemenea, eliberați în ciclul Krebs în etapele 0, 0 și sunt preluați de coenzimele NAD+ și FAD. Deoarece NAD4- preia doi electroni, dar doar un proton suplimentar, forma sa redusă este reprezentată ca NADH; cu toate acestea, FAD preia doi atomi de hidrogen complet și este redus la FADH2.

Acid piruvic

QQ-CoA

Acid oxaloacetic Acid citric

o O schimbare a ciclului începe pe măsură ce enzimele scot porțiunea de CoA din acetil CoA și combină gruparea acetil cu doi atomi de carbon rămasă cu acid oxaloacetic. Adăugarea grupării acetil produce acid citric cu șase atomi de carbon.

Enzimele rearanjează legăturile chimice, producând trei molecule diferite înainte de a regenera acidul oxaloacetic. În pasul 6, o oxidare produce $FADH_2$. în pasul 8, o oxidare finală generează NADH și transformă acidul malic în acid oxaloacetic, care este gata să intre în altă rundă a ciclului Krebs.

Acid izocitric

Acidul a-cetoglutaric

Oxidările generează NADH. Pasul 2 este o rearanjare. Etapele 3 și 4 combină oxidările și decarboxilările pentru a elimina doi atomi de carbon proveniți din acidul oxaloacetic. Carbonii sunt eliberați sub formă de CO_2, iar oxidările generează NADH din NAD^+. În timpul celei de-a doua oxidări (etapa 4), CoA este adăugat în ciclu, formând compusul succinil CoA.

$FADH_2$; 4

FAD ® ATP este produs prin fosforilarea la nivel de substrat. CoA este îndepărtat din succinil CoA, lăsând acid succinic.

Figura 5.13 Ciclul Krebs. Insertul indică relația dintre ciclul Krebs și procesul general de respirație. O versiune mai detaliată a ciclului Krebs este prezentată în Figura A.5 din Anexa A

Care sunt produsele ciclului Krebs?

Dacă ne uităm la ciclul Krebs în ansamblu, vedem că pentru fiecare două molecule de acetil CoA care intră în ciclu, patru molecule de CO_2 sunt eliberate prin decarboxilare, șase molecule de NADH și două molecule de $FADH_2$ sunt produse prin reacții de oxidare-reducere și două molecule de ATP sunt generate prin niveluri de fosfovizare. O moleculă de guanozin trifosfat (GTP), formată din guanozin difosfat (GDP + ©j), este similară cu ATP și servește ca intermediar în acest moment al ciclului. Mulți dintre intermediarii din ciclul Krebs joacă, de asemenea, un rol în alte căi", în special în biosinteza aminoacizilor (pagina 144).

Un lanț de transport de electroni (sistem). Insetul indică relația lanțului de transport de electroni cu ' Proc'ÎSS c ' -SP ' 3hon. În lanțul mitocondrial de transport de electroni prezentat, electronii trec de-a lungul lanțului în mod treptat și treptat, astfel încât energia este eliberată în cantități gestionabile. Pentru a afla unde se formează ATP, vezi Figura 5 16 31 Care sunt funcțiile lanțului de transport de electroni?

CO_2 produs în ciclul Krebs este în cele din urmă eliberat în atmosferă ca un produs secundar gazos al respirației aerobe. (Oamenii produc CO_2 din ciclul Krebs în majoritatea

celulelor corpului și îl descarcă prin plămâni în timpul expirației.) Coenzimele reduse NADH și FADH2 sunt cei mai importanți produși ai ciclului Krebs, deoarece conțin cea mai mare parte a energiei stocate inițial în glucoză. În timpul următoarei faze a respirației, o serie de reduceri transferă indirect energia stocată în acele coenzime către ATP. Aceste reacții sunt numite în mod colectiv lanț de transport de electroni. Animații Ciclul Krebs: Prezentare generală, pași

Lanțul de transport de electroni (sistem) Un lanț de transport de electroni (sistem) constă dintr-o secvență de molecule purtătoare care sunt capabile de oxidare și reducere. Pe măsură ce electronii trec prin lanț, are loc o eliberare treptată a energiei, care este utilizată pentru a conduce generarea chimiosmotică de ATP, pentru a fi descris pe scurt, oxidarea finală este ireversibilă. În celulele eucariote, lanțul de transport de electroni este conținut în membrana interioară a mitocondriilor; în celulele procariote, se găsește în membrana plasmatică.

Există trei clase de molecule purtătoare în lanțurile de transport de electroni, primele sunt flavoproteinele, acestea conțin flavină, o coenzimă derivată din riboflavină (vitamina B2) și sunt capabile să efectueze oxidări și reduceri alternative. O coenzimă flavină importantă este mononucleotida flavină (FMN). A doua clasă de molecule purtătoare sunt citocromii, proteine cu o grupă care conține fier (hem) capabilă să existe alternativ sub formă redusă (Fe') și sub formă oxidată (Fe3*). a) și citocromul a3 (cyt a3). A treia clasă este cunoscută sub numele de ubichinone sau coenzima Q, simbolizată cu Q; aceștia sunt mici purtători nonproteici.

Lanțurile de transport de electroni ale bacteriilor sunt oarecum diverse, prin aceea că purtătorii particulari utilizați de o bacterie și ordinea în care funcționează pot diferi de cele ale altor bacterii și de cele ale sistemelor mitocondriale eucariote. Chiar și o singură bacterie poate avea mai multe tipuri de. lanțuri de transport de electroni. Cu toate acestea, rețineți că toate lanțurile de transport de electroni ating același obiectiv de bază: să elibereze energie pe măsură ce electronii sunt transferați de la compuși cu energie mai mare la compuși cu energie mai mică. Se cunosc multe despre lanțul de transport de electroni din mitocondriile celulelor eucariote, așa că acesta este lanțul pe care îl vom descrie.

Primul pas în lanțul de transport de electroni mitocondrial implică transferul de electroni de înaltă energie de la NADH la FMN, primul purtător din lanț (Figura 5.14). Acest transfer implică de fapt trecerea unui atom de hidrogen cu doi electroni la FMN, care apoi preia un H+ suplimentar din mediul apos din jur. Ca rezultat al primului transfer, NADH este oxidat la NAD+, iar FMN este redus la FMNH2. În a doua etapă a lanțului de transport de electroni, FMNH2 trece 2H pe cealaltă parte a membranei mitocondriale (vezi Figura 5.16) și trece doi electroni către Q. Ca rezultat, FMNH2 este oxidat la FMN. Q preia, de asemenea, un 2H+ suplimentar din mediul apos din jur și îl eliberează pe cealaltă parte a membranei.

Următoarea parte a lanțului de transport de electroni implică citocromii. Electronii sunt trecuți succesiv de la Q la cyt b, cyt q, cyt c, cyt a și cyt a3. Fiecare citocrom din lanț este

redus pe măsură ce preia electroni și este oxidat pe măsură ce renunță la electroni. Ultimul citocrom, cyt a3, își transmite electronii către oxigenul molecular (O_2), care devine încărcat negativ și apoi preia protoni din mediul înconjurător pentru a forma H_2O.

Observați că Figura 5.14 arată $FADH_2$, care este derivat din ciclul Krebs, ca o altă sursă de electroni. Cu toate acestea, $FADH_2$ își adaugă electronii la lanțul de transport de electroni la un nivel mai scăzut decât NADH. Din această cauză, lanțul de transport de electroni produce cu aproximativ o treime mai puțină energie pentru generarea de ATP atunci când $FADH_2$ donează electroni decât atunci când este implicat NADH.

O caracteristică importantă a lanțului de transport de electroni este prezența unor purtători, cum ar fi FMN și Q, care acceptă și eliberează protoni, precum și electroni, și a altor purtători, cum ar fi citocromii, care transferă doar electroni. Fluxul de electroni în josul lanțului este însoțit în mai multe puncte de transportul activ (pomparea) protonilor din partea matricei a membranei mitocondriale interioare către partea opusă a membranei. Rezultatul este o acumulare de protoni pe o parte a membranei. Așa cum apa din spatele unui baraj stochează energie care poate fi folosită pentru a genera electricitate, această acumulare de protoni oferă energie pentru generarea de ATP prin mecanismul chemiosmotic.

Mecanismul chimiosmotic al generării ATP Mecanismul sintezei ATP folosind lanțul de transport de electroni se numește chemiosmods. Dacă înțelegem chemiosmoza, trebuie să reamintim câteva concepte care au fost introduse în Capitolul 4 ca parte a secțiunii despre mișcarea materialelor prin membrane (pagina 91). Amintiți-vă că substanțele difuzează pasiv prin membrane din zone cu concentrație mare în zone cu concentrație scăzută; această difuzie produce energie. De asemenea, reamintim că mișcarea substanțelor împotriva unui astfel de gradient de concentrație necesită energie și că, într-un astfel de transport activ de molecule sau ioni prin membranele biologice, energia necesară este de obicei furnizată de ATP. În chemiosmoză, energia eliberată atunci când o substanță se mișcă de-a lungul unui gradient este utilizată pentru a sintetiza ATP. „Substanța" în acest caz se referă la protoni. În respirație, chemiosmoza este responsabilă pentru cea mai mare parte a ATP-ului care este generat. Etapele chemiosmozei sunt după cum urmează (Figura 5.15 și Figura 5.16): O Pe măsură ce electronii energetici din NADH (sau clorofilă) trec pe lanțul de transport de electroni, unii dintre purtătorii din pompa de lanț - transportă activ - protoni prin membrană. Astfel de molecule purtătoare se numesc pompe de protoni.

■ Membrana fosfolipidă este în mod normal impermeabilă la protoni, astfel încât această pompare unidirecțională stabilește un gradient de protoni (o diferență în concentrațiile de protoni de pe cele două părți ale membranei). Pe lângă un gradient de concentrație, există un gradient de sarcină electrică. Excesul de H^+ de pe o parte a membranei face ca t pe partea să fie încărcat pozitiv în comparație cu cealaltă parte. Gradientul electrochimic rezultat are energie potențială, numită forță motrice a protonilor.

Protonii de pe partea membranei cu concentrația mai mare de protoni pot difuza prin membrană numai prin canale speciale de proteine care conțin o enzimă A/P sintază. Când are loc acest flux, energia este eliberată și este utilizată de enzimă pentru a sintetiza ATP din ADP și ©;.

Figura 5.16 arată în detaliu cum funcționează lanțul de transport de electroni la eucariote pentru a conduce mecanismul chemiosmotic.

@ Electronii energetici din NADH trec prin lanțurile de transport de electroni. În cadrul membranei mitocondriale interioare, purtătorii lanțului de transport de electroni sunt organizați în trei complexe, Q transportând electroni între primul și al doilea complex, iar cyt c transportându-i între al doilea și al treilea complex. @ Trei componente ale sistemului pompează protoni: primul și al treilea complex și Q. La sfârșitul lanțului, electronii se unesc cu protonii și oxigenul (O2) în fluidul matricei pentru a forma apă (H2O). Astfel, O? este acceptorul final de electroni.

Atât celulele procariote, cât și cele eucariote folosesc mecanismul chemiosmotic pentru a genera energie pentru producerea de ATP. Cu toate acestea, în celulele eucariote, membrana mitocondrială interioară conține purtătorii de transport de electroni și ATP sintaza, în timp ce în majoritatea celulelor procariote, membrana plasmatică face acest lucru. Un lanț de transport de electroni funcționează și în fotofosforilare și este situat în membrana tilacoidă a cianobacteriilor și a cloroplastelor eucariote.

Un rezumat al respirației aerobe Lanțul de transport de electroni regenerează NAD+ și FAD, care pot fi folosite din nou în glicoliză și ciclul Krebs. Diferitele transferuri de electroni din lanțul de transport de electroni generează aproximativ 34 de molecule de ATP din fiecare moleculă de glucoză oxidată: aproximativ trei din fiecare dintre cele zece molecule de NADH (un total de 30) și aproximativ două din fiecare dintre cele două molecule de FADH2 (un total de patru). Pentru a ajunge la numărul total de molecule de ATP generate pentru fiecare moleculă de glucoză, cele 34 din chemiosmoză

TABELUL 5.3 Randamentul ATP în timpul respirației aerobe procariote a unei molecule de glucoză

Sursă   ATP Yieîd (Metoda)

Glicoliza

Oxidarea glucozei la acid piruvic

Producția de 2 NADH

Etapa pregătitoare

1. Formarea acetvl CoA produce

2 NADH

Ciclul Krebs

Oxidarea succinil CoA la acid succinic

Producția de 6 NADH

Producerea a 2 FADH

Ciclul Krebs

2 ATP (fosforilare la nivel de substrat)

6 ATP (fosforilarea oxidativă în lanțul de transport de electroni)

6 ATP (fosforilarea oxidativă în lanțul de transport de electroni)

lanțul de transport și chemiosmoza

2 GTP (echivalentul ATP; fosforilare la nivel de substrat)

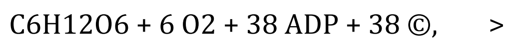
18 ATP (fosforilarea oxidativă în lanțul de transport de electroni)

4 ATP (fosforilarea oxidativă în lanțul de transport de electroni)

Total: 38 ATP

se adaugă celor generate de oxidare în glicoliză și ciclul Krebs. În respirația aerobă printre procariote, dintr-o moleculă de glucoză pot fi generate un total de 38 de molecule de ATP. Rețineți că patru dintre acești ATP provin din fosforilarea la nivel de substrat în glicoliză și din ciclul Krebs. Tabelul 5.3 oferă o contabilitate detaliată a randamentului de ATP în timpul respirației aerobe procariote.

Respirația aerobă printre eucariote produce un total de doar 36 de molecule de ATP. Există mai puțini ATP decât la procariote, deoarece o parte de energie se pierde atunci când electronii sunt transportați prin membranele mitocondriale care separă glicoliza (în citoplasmă) de lanțul de transport de electroni. Nu există o astfel de separare la procariote. Acum putem rezuma reacția generală pentru respirația aerobă la procariote, după cum urmează:



$C_6H_{12}O_6$ + 6 O_2 + 38 ADP + 38 ©, >



Glucoză Oxigen 6CO_2 T 6 H_2O + 38 ATP

Dioxid de apă de carbon

Un rezumat al diferitelor etape ale respirației aerobe la procariote este prezentat în Figura 5.17.

Respirația anaerobă

În respirația anaerobă, acceptorul final de electroni este o substanță anorganică, alta decât oxigenul (O_2). Unele bacterii, cum ar fi Pseudomonas și Bacillus, pot folosi un ion de nitrat (NO_3~) ca acceptor final de electroni; ionul de azotat este redus la un ion de azot (NO_2’), protoxid de azot (N_2O) sau azot gazos (N_2). Alte bacterii, cum ar fi Desulfovibrio (de-sul-fo-vib' re-o), folosesc sulfatul (SO_4^{2-}) ca acceptor final de electroni pentru a forma hidrogen sulfurat (H_2S). Alte bacterii folosesc carbonatul (CO_3^2) pentru a forma metan (CH_4). Respirația anaerobă a bacteriilor care folosesc nitrat și sulfat ca acceptori finali este esențială pentru ciclurile de azot și sulf care apar în natură. Cantitatea de ATP generată în respirația anaerobă variază în funcție de organism și cale. Deoarece doar o parte a ciclului Krebs funcționează în condiții anaerobe și pentru că nu toți purtătorii din lanțul de transport de electroni participă la respirația anaerobă, randamentul de ATP nu este niciodată la fel de mare ca în respirația aerobă. În consecință, anaerobii tind să crească mai lent decât aerobii, (mm) Animații Lanțul de transport de electroni: prezentare generală, proces, factori care afectează randamentul ATP

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care sunt principalele produse ale ciclului Krebs? 5-13 Cum funcționează moleculele purtătoare în lanțul de transport de electroni? 5-14

Comparați randamentul energetic (ATP) al respirației aerobe și anaerobe. 5-15

Fermentaţie

După ce glucoza a fost descompusă în acid pvruvic, acidul piruvic poate fi descompus complet în respirație, așa cum s-a descris anterior, sau poate fi transformat într-un produs organic în fermentație, după care NAD+ și NADP+ sunt regenerate. și poate intra în altă rundă de glicoliză (vezi Figura 5.11).

Fer ierea poate fi definită în mai multe moduri (vezi caseta, pagina 134), dar o definim aici ca un proces care

eliberează energie din zaharuri sau din alte molecule organice, cum ar fi aminoacizi, acizi organici, purine și pirimidine;

nu necesită oxigen (dar uneori poate apărea în prezența sa);

nu necesită utilizarea ciclului Krebs sau a unui lanț de transport de electroni;

folosește o moleculă organică ca acceptor final de electroni;

produce doar cantități mici de ATP (doar una sau două molecule de ATP pentru fiecare moleculă de material inițial) deoarece multă energie inițială din glucoză rămâne în legăturile chimice ale produselor finale organice, cum ar fi acidul lactic sau etanolul.

În timpul fermentației, electronii sunt transferați (împreună cu protonii) din coenzimele reduse (NADH, NADPH) către acidul piruvic sau derivații săi (figura 5.18a). Acei acceptori finali de electroni sunt reduși la produsele finale prezentate în Figura 5.18b. O funcție esențială a celei de-a doua etape a fermentației este aceea de a asigura un aport constant de NAD'*' și NADP" astfel încât glicoliza să poată continua. În fermentație, ATP este generat numai în timpul glicolizei.

Microorganismele pot fermenta diverse substraturi; produsele finale depind de microorganismul particular, de substrat și de enzimele care sunt prezente și active. Analizele chimice ale acestor produse finite sunt utile în identificarea microorganismelor.

În continuare, luăm în considerare două dintre cele mai importante procese: fermentația acidului lactic și fermentația alcoolică.

Fermentarea acidului lactic

În timpul glicolizei, care este prima fază a fermentației acidului lactic, o moleculă de glucoză este oxidată la două molecule de acid piruvic (Figura 5.19; vezi și Figura 5.10). Această

oxidare generează energia care este utilizată pentru a forma cele două molecule de Al P. În etapa următoare, cele două molecule de acid piruvic sunt reduse cu două molecule de NADH pentru a forma două molecule de acid lactic (Figura 5.19a). Deoarece acidul lactic este produsul final al reacției, nu suferă o oxidare suplimentară și cea mai mare parte a acesteia

energia produsă de reacție rămâne stocată în acidul lactic. Prin urmare, această fermentație produce doar o cantitate mică de energie.

Două genuri importante de bacterii lactice sunt Streptococcus și Lactobacillus (lak-to-ba-sil lus). Deoarece acești microbi produc numai acid lactic, ei sunt denumiți homolactici (sau homofermentativi). Fermentarea acidului lactic poate duce la deteriorarea alimentelor. Cu toate acestea, procesul poate produce și iaurt din lapte, varză murată din varză proaspătă și murături din castraveți.

Caz clinic

Simțindu-se sigură că trebuie să existe o oarecare legătură între creșterea cariilor dentare și activitățile pacienților ei, dr. Rivera începe să pună mai multe întrebări despre activitățile copiilor. Ea află că toți participă la un program de vară la aceeași biserică dintr-un cartier din apropiere. De asemenea, descoperă că vinovatul nu este bomboana, ci guma de mestecat. Consilierii taberei au oferit gumă de mestecat ca un stimulent pentru prezență și comportament bun. Deși dr. Rivera este încântată să audă că pacienții ei s-au comportat singuri, ea este îngrijorată de cantitatea de gumă pe care au mestecat-o zilnic. Zaharoza din gingie determină o scădere a pH-ului salivei, iar acidul erodează smalțul dinților, expunând astfel dintele la carii bacteriene. .

Dacă pH-ul gumei și al zaharozei este 7, ce scade pH-ul salivar?

133

Fermentarea alcoolului

Fermentarea alcoolului începe, de asemenea, cu glicoliza unei molecule de glucoză pentru a produce două molecule de acid piruvic și două molecule de ATP. În următoarea reacție, cele două molecule de acid piruvic sunt transformate în două molecule de acetaldehidă și două molecule de CO_2 (Figura 5.19b). Cele două molecule de acetaldehidă sunt apoi reduse cu două molecule de NADH pentru a forma două molecule de etanol. Din nou, fermentarea alcoolului este un proces cu randament energetic scăzut, deoarece cea mai mare parte a energiei conținute în molecula inițială de glucoză rămâne în etanol, produsul final.

Fermentarea alcoolică este efectuată de o serie de bacterii și drojdii. Etanolul și dioxidul de carbon produse de drojdia Saccharomyces (sak-a-ro-mis) sunt produse reziduale pentru celulele de drojdie, dar sunt utile oamenilor. Etanolul produs de drojdii este alcoolul din băuturile alcoolice, iar dioxidul de carbon produs de drojdii face ca aluatul de pâine să crească.

Organismele care produc acid lactic, precum și alți acizi sau alcooli sunt cunoscute ca heterolactice (sau heterofermentative) și folosesc adesea calea pentozei fosfat. .

Glicoliza

Glucoză

(b) Fermentarea alcoolului

Figura 5.19 Tipuri de ofertă.

este diferența dintre homolactic și heterolactic

Tabelul 5.4 enumeră unele dintre diferitele fermentații microbiene utilizate de industrie pentru a transforma materiile prime ieftine în produse finale utile. Tabelul 5.5 oferă o comparație sumară între respirația aerobă, respirația anaerobă și fermentația.

Fermentație de animație

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Enumerați patru compuși care pot fi obținuți din acid piruvic de către un organism care utilizează fermentația. 5-16

Catabolismul lipidelor și proteinelor

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-17 Descrieți modul în care lipidele și proteinele suferă catabolism.

Discuția noastră despre producția de energie a pus accentul pe oxidarea glucozei, principalul carbohidrat care furnizează energie.

Cu toate acestea, microbii oxidează și lipidele și proteinele, iar oxidările tuturor acestor nutrienți sunt legate.

Amintiți-vă că grăsimile sunt lipide formate din acizi grași și glicerol. Microbii produc enzime extracelulare numite lipaze care descompun grăsimile în componentele lor de acizi grași și glicerol. Fiecare componentă este apoi metabolizată separat (Figura 5.20). Ciclul Krebs funcționează în oxidarea glicerolului și a acizilor grași. Multe bacterii care hidrolizează acizii grași pot folosi aceleași enzime pentru a degrada produsele petroliere. Deși aceste bacterii sunt o pacoste atunci când cresc într-un rezervor de stocare a

combustibilului, ele sunt benefice atunci când cresc în deversările de petrol. Beta-oxidarea (oxidarea acizilor grași) a petrolului este ilustrată în caseta din Capitolul 2 (pagina 32).

Proteinele sunt prea mari pentru a trece fără ajutor prin membranele plasmatice. Microbii produc proteaze extracelulare și peptidaze.

TABELUL 5.4 Câteva utilizări industriale pentru diferite tipuri de fermentații*

Produs final de fermentație

Dacă nu este menționat altfel, microorganismele enumerate sunt bacterii.

Lipide (grasimi)

Lipaza

Glicerol

Acizi grași

Beta-oxidarea

Gliceralaehida

3-fosfaie

Dihidroxiacetonă fosfat

Acetil CoA

Glicoliza

Caz clinic

Denta. Cariile sunt cauzate de streptococi orali, inclusiv S. mutans, S. saliuarius și S. sobrinus, care se atașează de suprafețele dentare. Streptococii orali fermentează zaharoza și produc acid lactic, care scade pH-ul salivar. Dr. Rivera decide să le ceară consilierilor din tabără să înlocuiască guma de mestecat cu o gumă fără zahăr făcută cu xilitol. Un studiu a arătat că guma de mestecat îndulcită cu xilitol, un alcool zaharat natural, poate reduce

semnificativ numărul de carii dentare la copii, deoarece scade numărul de S. mutans din gură.

De ce ar putea xilitolul să reducă numărul de S. mutans?

135

Acid piruvic

Acetil CoA <•

Figura 5.20 Catabolismul lipidelor. Glicerolul este transformat în dihidroxiacetonă fosfat (DHAP) și catabolizat prin glicoliză și ciclul Krebs. Acizii grași suferă beta-oxidare, în care fragmentele de carbon sunt separate câte două pentru a forma acetil CoA, care este catabolizat prin ciclul Krebs.

(3 Care este rolul lipazelor?

enzime care descompun proteinele în aminoacizii lor componente, care pot traversa membranele. Cu toate acestea, înainte ca aminoacizii să poată fi catabolizați, ei trebuie

convertiți enzimatic în alte substanțe care pot intra în ciclul Krebs. Într-o astfel de conversie, numită deaminare, gruparea amino a unui aminoacid este îndepărtată și transformată într-un ion de amoniu ($NH4+$), care poate fi excretat din celulă. Acidul organic rămas poate intra în ciclul Krebs. Alte conversii implică decarboxilarea (îndepărtarea COOH) și dehidrogenarea.

Un rezumat al interrelațiilor dintre catabolismul carbohidraților, lipidelor și proteinelor este prezentat în Figura 5.21.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

P"* Care sunt produsele finale ale catabolismului lipidic și proteic? 5-17

Teste biochimice și

Identificarea bacteriilor

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-18 Furnizați două exemple de utilizare a testelor biochimice pentru identificarea bacteriilor în laborator.

Testele biochimice sunt frecvent utilizate pentru a identifica bacteriile și drojdiile, deoarece speciile diferite produc enzime diferite. Astfel de teste biochimice sunt concepute pentru a detecta prezența enzimelor.

TABELUL 5.5 Respirația aerobă, respirația anaerobă și fermentația

J Care sunt căile catabolice prin care electronii de înaltă energie din tot felul de molecule organice curg pe căile lor de eliberare a energiei?

Un tip de test biochimic este detectarea enzimelor de catabolizare a aminoacizilor implicate în decarboxilare și dehidrogenare (discutat la pagina 120; Figura 5.22).

Un alt test biochimic este un test de fermentație. Mediul de testare conține proteine, un singur carbohidrat, un indicator de pH și un tub Durham inversat, care este folosit pentru a

capta gazul (Figura 5.23a). Bacteriile inoculate în tub pot folosi proteina sau carbohidrații ca sursă de carbon și energie. Dacă aceștia catabolizează carbohidrații și produc acid, indicatorul de pH își schimbă culoarea. Unele organisme produc gaz, precum și acid din catabolismul carbohidraților. Prezența unei bule în tubul Durham indică formarea de gaz (Figura 5.23bd).

⍰⍰ oli fermentează sorbitolul glucidic. Tulpina patogenă de E. coli O157 „h°wever” nu fermentează sorbitolul, o caracteristică care îl diferențiază de E. coli comensal, nepatogen.

Un alt exemplu de utilizare a testelor biochimice este prezentat în Figura 10.8 la pagina 284.

Figura 5.22 Detectarea enzimelor de catabolizare a aminoacizilor în laborator. Bacteriile sunt inoculate în tuburi care conțin glucoză, un indicator de pH și un aminoacid specific, (a) Indicatorul de pH devine galben când bacteriile produc acid din glucoză, fo) Produsele alcaline de la decarboxilare transformă indicatorul în violet.

Ml Ce este decarboxilarea?

În unele cazuri, deșeurile unui microorganism pot fi folosite ca sursă de carbon și energie de către o altă specie. Bacteriile Acetobacter (o se-to-bak'ter) oxidează etanolul produs de drojdie. Propionibacterium (pro-pe-on-e-bak-ti're-um) poate folosi acid lactic produs de alte bacterii. Propionibacteriile transformă acidul lactic în acid piruvic în pregătirea ciclului Krebs. În timpul ciclului Krebs, se formează acid propionic și CO_2, găurile din brânza elvețiană se formează prin acumularea gazului CO_2.

Testele biochimice sunt folosite pentru a identifica bacteriile care cauzează boli. Toate bacteriile aerobe folosesc lanțul de transport de electroni (ETC),

Figura 5.23 Un test de fermentație, (a) Un tub de fermentație neinoculat care conține manitol carbohidrat, (b) Staphylococcus epidermidis a crescut în oroteină, dar nu a folosit carbohidratul. Acest organism este descris ca manitol -. (c) Staphylococcus aureus a produs acid, dar nu gaz. Această specie este manitol +. (d) Escherichia coli este, de asemenea, manitol + și a produs acid și gaz.din manitol. Gazul este prins în tubul Durham inversat.

Figura 5.24 Utilizarea agar peptonă fier pentru a detecta producția de H_2S. H_2S produs în tub precipită cu fier în mediu sub formă de sulfură feroasă.

Ce reacție chimică provoacă eliberarea de H_2S?

dar nu toate ETC-urile lor sunt identice. Unele bacterii au citocromul c, dar altele nu. În primul, citocrom c oxidaza este ultima enzimă, care transferă electroni în oxigen. Testul de oxidază este utilizat în mod obișnuit pentru a identifica rapid Neisseria gonorrhoeae. Neisseria este pozitivă pentru citocrom oxidază. Testul oxidazei poate fi folosit și pentru a distinge unele baghete gram-negative: Pseudomonas este oxidază pozitivă, iar Escherichia este oxidază negativă.

Shigella provoacă dizenterie. Shigella se diferențiază de E. coli prin teste biochimice. Spre deosebire de E. coli, Shigella nu produce gaz din lactoză și nu produce enzima lactat dehidrogenază.

Bacteriile Salmonella sunt ușor de distins de E. coli prin producerea de hidrogen sulfurat (H2S). Hidrogenul sulfurat este eliberat atunci când bacteriile elimină sulful din aminoacizi (Figura 5.241). rfhe H2S se combină cu fierul pentru a forma un precipitat negru într-un mediu de cultură.

Caseta de la pagina 142 descrie modul în care au fost utilizate testele biochimice pentru a determina cauza bolii la un copil mic din Dallas, Texas.

Caz clinic rezolvat

S. mutans nu poate fermenta xilitolul; în consecință, nu crește și nu poate produce acid în gură. Tabăra . consilierii sunt de acord să treacă la gumă fără zahăr făcută cu xilitol, iar dr. Rivera este mulțumit. Ea înțelege că vor exista și alte surse de zaharoză în alimentația copiilor, dar cel puțin pacienții ei nu vor mai fi afectați negativ de stimulentele bine intenționate ale taberei. Cercetătorii încă investighează modalități prin care antimicrobienele și vaccinurile pot fi utilizate pentru a reduce colonizarea bacteriilor. Cu toate acestea, reducerea consumului de gumă și bomboane care conțin zaharoză poate fi o măsură preventivă eficientă.

13 137

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

£*** Pe ce bază biochimică sunt diferențiate Pseudomonas și Escherichia? 5-18

Fotosinteză

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

5-19 Comparați și contrastați fotofosforilarea ciclică și rionciclică.

5-20 Comparați și contrastați reacțiile dependente de lumină și independente de lumină ale fotosintezei.

5-21 Comparați și contrastați fosforilarea oxidativă și fotofosforilarea.

În toate căile metabolice tocmai discutate, organismele obțin energie pentru lucrul celular prin oxidarea compușilor organici. Dar de unde obțin organismele acești compuși organici? Unii, inclusiv animale și mulți microbi, se hrănesc cu materie produsă de alte organisme. De exemplu, bacteriile pot cataboliza compuși din plante și animale moarte sau pot obține hrană de la o gazdă vie.

Alte organisme sintetizează compuși organici complecși din substanțe anorganice simple. „Mecanismul major pentru o astfel de sinteză este un proces numit fotosinteză, care este realizat de plante și mulți microbi. În esență, fotosinteza este conversia energiei luminoase de la soare în energie chimică. Energia chimică este apoi folosită pentru a converti CO_2 din atmosferă în compuși cu carbon mai redus, în primul rând zaharuri. Cuvântul fotosinteză rezumă procesul: fotografie înseamnă lumină, iar sinteza se referă la asamblarea compușilor organici. Această sinteză a zaharurilor prin utilizarea atomilor de carbon din CO_2 gazos se mai numește și fixare a carbonului. Continuarea vieții așa cum o cunoaștem pe Pământ depinde de reciclarea carbonului în acest fel (vezi Figura 27.3 la pagina 775). Cianobacteriile, algele și plantele verzi contribuie la această reciclare vitală prin fotosinteză.

Fotosinteza poate fi rezumată cu următoarele ecuații:

Plantele, algele și cianobacteriile folosesc apa ca donor de hidrogen, eliberând O_2.

$6\ CO_2 + 12\ H_2O +$■ Energie luminoasă—»

$C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O + 6\ O_2$

Bacteriile cu sulf violet și sulful verde folosesc H_2S ca donor de hidrogen, producând granule de sulf.

$6\ CO_2 + 12\ H_2S +$ Energie luminoasă—»

C6H]2O6 + 6 H2O + 12 S În cursul fotosintezei, electronii sunt prelevați de la atomii de hidrogen, o moleculă săracă în energie, și încorporați în zahăr, o moleculă bogată în energie. Aportul de energie este furnizat de energia luminoasă, deși indirect.

Fotosinteza are loc în două etape. În prima etapă, numită reacții dependente de lumină (lumină), energia luminoasă este utilizată pentru a converti ADP și © în ATP. În plus, în forma predominantă a reacțiilor dependente de lumină, purtătorul de electroni NADP4" este redus la NADPH. Coenzima NADPH, ca și NADH, este un purtător de electroni bogat în energie. În a doua etapă, reacțiile independente de lumină (întuneric), acești electroni sunt utilizați împreună cu energia din ATP pentru a reduce CO_2 la zahăr.

Fotosinteza animației: prezentare generală

Reacțiile dependente de lumină: fotofosforilarea

Fotofosforilarea este una dintre cele trei moduri în care se formează ATP și are loc numai în celulele fotosintetice. În acest mecanism, energia luminii este absorbită de moleculele de

clorofilă din celula fotosintetică, excitând unii dintre electronii moleculelor. Clorofila folosită în principal de plantele verzi, alge și cianobacterii este clorofila a. Este localizat în tilacoizii membranosi ai cloroplastelor la alge și plante verzi (vezi Figura 4.28, pagina 105) și în tilacoizii aflați în structurile fotosintetice ale cianobacteriilor. Alte bacterii folosesc bacterioclorofile.

Electronii excitați sar de la clorofilă la prima dintr-o serie de molecule purtătoare, un lanț de transport de electroni similar cu cel folosit în respirație. Pe măsură ce electronii trec de-a lungul seriei de purtători, protonii sunt pompați peste membrană, iar ADP este transformat în ATP prin chemiosmoză. Clorofila și alți pigmenți sunt împachetate în tilacoizii cloroplastelor (vezi Figura 4.28 la pagina 105) și sunt numite fotosisteme. Fotosistemul II este atât de numerotat pentru că, deși cel mai probabil a fost primul fotosistem care a evoluat, a fost al doilea descoperit. Conține clorofilă care este sensibilă la lungimi de undă ale luminii de 680 nm. rotosistemul I conține clorofilă care este sensibilă la lungimi de undă ale luminii de 700 nm. În fotofosforilarea ciclică, electronii eliberați din clorofilă în fotosistemul I revin în cele din urmă la clorofilă (Figura 5.25a). În fotofosforilarea neciclică, care este utilizată în organismele oxigenate, electurile eliberate din clorofilă în fotosistemul II și fotosistemul I nu revin la clorofilă, ci devin încorporate în NADPH (Figura 5.25b). Electronii pierduți din clorofilă sunt înlocuiți cu electroni din H2O. Pentru a rezuma: produsele fotofosforilării neciclice sunt ATP (format prin chemiosmoză folosind energia eliberată într-un lanț de transport de electroni), O2 (din moleculele de apă) și NADPH (în care electronii și protonii hidrogenului au fost derivați în cele din urmă din apă). Animații Reacția luminii: Fotofosforilare ciclică; Reacția luminii: Fotofosforilare neciclică

Reacțiile independente de lumină:

Ciclul Calvin-Benson

Reacțiile independente de lumină (întuneric) sunt numite astfel deoarece nu necesită lumină direct. Acestea includ o cale ciclică complexă numită ciclu Calvin-Benson, în care CO2 este „fix” – adică

Figura 5.25 Fotofosforilarea, (a) În fotofosforilarea ciclică, e ectronii eliberați din clorofilă de lumină revin la clorofilă după trecerea de-a lungul lanțului de transport de electroni. Energia din transferul de electroni este transformată în ATP. (b) În fotofosforilarea neciclică, electronii reieaseo din clorofilă în fotosistemul II sunt înlocuiți cu e. ectroni *din atomii de hidrogen din apă. Acest proces eliberează și ioni de hidrogen. Electronii din clorofilă din ohotosistemul I sunt trecuți de-a lungul lanțului de transport de electroni către acceptorul de electroni NADP+. NADP+ comină cu electronii și cu ionii de hidrogen din apă, formând NADPH.

Cum sunt similare fosforilarea oxidativă și fotofosforilarea?

utilizat pentru sintetizarea zaharurilor (Figura 5.26, vezi și Figura Al din Anexa A). (mJ' Reacții independente de lumină de animație

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum este importantă fotosinteza pentru catabolism? 5-19

Ce se face în timpul reacțiilor dependente de lumină? 5-20 Cum sunt similare fosforilarea oxidativă și fotofosforilarea? 5-21

O svfrnmary a mecanismelor de producere a energiei

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-22 Scrieți o propoziție pentru a rezuma producția de energie în celule.

În lumea vie, energia trece de la un organism la altul sub forma energiei potențiale conținute în legăturile compușilor chimici. Organismele obțin energia din reacțiile de oxidare. Pentru a obține energie într-o formă utilizabilă, o celulă trebuie să aibă un donor de electroni (sau hidrogen), care servește ca sursă inițială de energie în interiorul celulei. Donatorii de electroni sunt diverși și pot include pigmenți fotosintetici, glucoză sau alți compuși organici, sulf elementar, amoniac sau hidrogen gazos (Figura 5.27). În continuare, electronii îndepărtați din sursele de energie chimică sunt transferați către purtători de electroni, cum ar fi coenzimele NAD+, NADP' și FAD. Acest transfer este o reacție de oxidare-reducere; sursa de energie inițială este oxidată pe măsură ce acest prim purtător de electroni este redus. În această fază, se produce puțin ATP. În a treia etapă, electronii sunt transferați de la purtătorii de electroni la acceptorii lor finali de electroni în reacții ulterioare de oxidare-reducere, producând mai mult ATP.

În respirația aerobă, oxigenul (O2) servește ca acceptor final de electroni. În respirația anaerobă, substanțele anorganice, altele decât oxigenul, cum ar fi ionii de nitrat (NO3) sau ionii de sulfat (SO4), servesc ca acceptori finali de electroni. În fermentație, compușii organici servesc ca acceptori finali de electroni surse de energie, toate organismele folosesc oxido-reducere similară

reacții de transfer de electroni și mecanisme similare de utilizare a energiei eliberate pentru a produce ATP.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Rezumați modul în care oxidarea permite organismelor să obțină energie din glucoză, sulf sau lumina soarelui. 5-22

Diversitatea metabolică între organisme

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-23 Clasificați diferitele modele nutriționale dintre organisme în funcție de sursa de carbon și mecanismele de catabolism al carbohidraților și de generare a ATP.

Am analizat în detaliu unele dintre căile metabolice generatoare de energie care sunt folosite de animale și plante, precum și de mulți microbi. Cu toate acestea, microbii se disting prin marea lor diversitate metabolică, iar unii se pot întreține pe substanțe anorganice folosind căi care nu sunt disponibile nici pentru plante, nici pentru animale. Toate organismele, inclusiv microbii, pot fi clasificate metabolic în funcție de tiparul lor nutrițional - sursa lor de energie și sursa lor de carbon.

În primul rând, luând în considerare sursa de energie, putem în general clasifica organismele ca fototrofe sau chemotrofe. Fototrofele folosesc lumina ca sursă de energie primară, în timp ce chemotrofele depind de reacțiile de oxidare-reducere ale compușilor anorganici sau organici pentru energie. Pentru sursa lor principală de carbon, autotrofii (auto-alimentatorii) folosesc dioxid de carbon și heterotrofei

Purtători de electroni

NADP*

NAD+ FAD

Acceptori finali de electroni

O2
(
respirație aerobă)

NO3-, SO42-
(
respirație anaerobă)

Compus
organic
(fermentare)

Figura 5.27 Cerințele producției de ATP. Producerea de ATP necesită @ o sursă de energie (donator de electroni), © transferul de electroni către un purtător de electroni în timpul unei reacții de oxidare-reducere și 0 transferul de electroni către un acceptor final de electroni.

21 Reacțiile generatoare de energie sunt oxidări sau reduceri?

(hrănitorii pe alții) necesită o sursă de carbon organic. Autotrofii sunt, de asemenea, denumiți litotrofe (mănâncă pietre), iar heterotrofei sunt, de asemenea, denumiți organotrofi.

Dacă combinăm sursele de energie și de carbon, obținem următoarele clasificări nutriționale pentru organisme: fotoautotrofe, fotoheterotrofe, chimioautotrofe și chemoheterotrofe (Figura 5.28). Aproape toate microorganismele importante din punct de vedere medical discutate în această carte sunt chimioheterotrofe. De obicei, organismele infecțioase catabolizä substanțele obținute de la gazdă.

Fotoautotrofe

Fotoautotrofele folosesc lumina ca sursă de energie și dioxidul de carbon ca sursă principală de carbon. Acestea includ bacterii fotosintetice (bacteriile verzi și violete și cianobacteriile), alge și plante verzi. În reacțiile fotosintetice ale cianobacteriilor, algelor și plantelor verzi, atomii de hidrogen ai apei sunt utilizați pentru a reduce dioxidul de carbon și se eliberează oxigen gazos. Deoarece acest proces fotosintetic produce O2, este uneori numit oxigen.

Pe lângă cianobacterii (vezi Figura 11.21, pagina 321), există câteva alte familii de procariote fotosintetice. Fiecare este clasificat în funcție de modul în care reduce CO2. Aceste bacterii nu pot folosi H2O pentru a reduce CO2 și nu pot desfășura fotosinteza atunci când este prezent oxigenul (trebuie să aibă un mediu anaerob). În consecință, procesul lor fotosintetic face

Sursa de energie

Chimic

Fototrofe

Figura 5.28 O clasificare nutrițională a organismelor.

Care este diferența de bază dintre chimiotrofe și fototrofe?

Pe măsură ce citiți această casetă, veți întâlni o serie de întrebări pe care tehnicienii de laborator și le pun atunci când identifică bacteriile. Încercați să răspundeți la fiecare întrebare înainte de a trece la următoarea.

Daria, o fetiță afro-americană de 12 luni, este adusă de părinții ei la departamentul de urgență al unui spital din Dallas, Texas. Are febră de 39°C, abdomen destins, unele dureri abdominale și diaree apoasă. Daria este internată în aripa de pediatrie a spitalului, în

așteptarea rezultatelor analizelor de laborator și radiologice. Rezultatele testelor sugerează tuberculoză peritoneală. Cauzat de unul

a mai multor specii strâns înrudite din complexul Mycobacterium tuberculosis, TB este o afecțiune raportabilă în Statele Unite. TBC peritoneal este o boală a intestinelor și a cavității abdominale.

Ce organ este de obicei asociat cu tuberculoza? Cum ar putea cineva să facă tuberculoză peritoneală?

TBCul pulmonar este contractat prin inhalarea bacteriilor; ingerarea bacteriilor poate duce la TBC peritoneal. O laparoscopie dezvăluie că sunt prezenți noduli în cavitatea abdominală a Dariei. O porțiune dintr-un nodul este îndepărtată pentru biopsie, astfel încât să poată fi observată

pentru prezența bacteriilor acido-rezistente. Pe baza prezenței nodulilor abdominali, medicul Daria începe tratamentul antituberculos convențional. Acest tratament pe termen lung poate dura până la 12 luni.

Care este următorul pas?

Rezultatele de laborator confirmă că bacteriile acido-resistente sunt într-adevăr prezente în cavitatea abdominală a Dariei. Laboratorul trebuie acum să identifice Mycobacterium

Figura A O schemă de identificare pentru speciile selectate de micobacterii cu creștere lentă.

specii. Speciarea complexului M. tuberculosis se face prin testare biochimică în laboratoarele de referință (Figura A). Bacteriile trebuie cultivate în medii de cultură. Micobacteriile cu creștere lentă pot dura până la 6 săptămâni pentru a forma colonii.

După ce coloniile au fost izolate, care este următorul pas?

Două săptămâni mai târziu, rezultatele de laborator arată că bacteriile au o creștere lentă. Conform schemei de identificare, trebuie efectuat testul de urează.

Care este rezultatul prezentat în figura B?

5. Deoarece testul ureazei este pozitiv, se efectuează testul de reducere a nitraților. Acesta arată că bacteriile nu produc enzima nitrat reductază. Medicul Dariei le anunță părinților ei că sunt foarte aproape de a identifica agentul patogen care cauzează boala Dariei.

Ce este bacteria?

•I M. bovis este un agent patogen care infectează în primul rând bovinele. Cu toate acestea, oamenii se pot infecta prin consumul de produse lactate nepasteurizate sau prin inhalarea infecțioase

Figura B Testul ureazei. Într-un test pozitiv, ureaza bacteriană hidrolizează ureea, producând amoniac. Amoniacul crește pH-ul, iar indicatorul din mediu se transformă în fucsia.

picături de la bovine. Transmiterea de la om la om are loc doar rar. Caracteristicile clinice și patologice ale/W. bovis TB nu se distinge de M. tuberculosis^, dar identificarea bacteriei este importantă pentru prevenire și tratament. Copiii pot fi expuși unui risc mai mare. Într-un studiu, aproape jumătate din cazurile de TB pediatrică cu cultură pozitivă au fost cauzate de M. bovis.

Din păcate, Daria nu își revine după boală. Sistemul ei cadiovascular se prăbușește și moare. Cauza oficială a decesului este tuberculoza peritoneală cauzată de M. bovis. Toată lumea ar trebui să evite consumul de produse din lapte de vacă nepasteurizat, care prezintă riscul de a transmite M. bovis dacă sunt importate din țări în care bacteria este comună la bovine.

Sursa: Adaptare de la Rodwell TC, Moore M,, Moser KS, Brodine SK, Strathdee SA, „Mycobacterium bovis uberculosis in Binational Communities," Emerging

Boli Infecțioase, iunie 2008, volumul 14 (6), pp. 909-916. „ Disponibil de la http://www.cdc.goV/eid/content/14/6/909. htm. .

nu produc O2 și se numește anoxigen. Foto-autotrofele anoxigenice sunt bacteriile verzi și violete. Bacteriile verzi, cum ar fi clorobiul (klo-ro'be-um), folosesc sulf (S), compuși cu sulf (cum ar fi hidrogen sulfurat, H2S) sau hidrogen gazos (H2) pentru a reduce dioxidul de carbon și a forma compuși organici. Aplicând energia din lumină și enzimele adecvate, aceste bacterii oxidează sulfura (S2) sau sulful (S) la sulfat (SO42-) sau oxidează hidrogenul gazos în apă (H2O). Bacteriile violet, cum ar fi Chromatium (krd-mă'te-um), folosesc și sulf, compuși de sulf sau hidrogen gazos pentru a reduce dioxidul de carbon. Ele se disting de bacteriile verzi prin tipul lor de clorofilă, locația sulfului stocat și ARN-ul ribozomal.

Clorofilele folosite de aceste bacterii fotosintetice se numesc bacterioclorofile și absorb lumina la lungimi de undă mai mari decât cea absorbită de clorofila a. Bacterioclorofilele bacteriilor cu sulf verde se găsesc în vezicule numite clorozomi (sau vezicule de clorobiu) aflate subiacente și atașate de membrana plasmatică. În bacteriile cu sulf violet, bacterioclorofilele sunt localizate în invaginările membranei plasmatice (cromatofori).

Tabelul 5.6 rezumă câteva caracteristici care disting fotosinteza eucariotă de fotosinteza procariotă. @ Animație care compară procariote și eucariote

Fotoheterotrofe

Fotoheterotrofele folosesc lumina ca sursă de energie, dar nu pot transforma dioxidul de carbon în zahăr; mai degrabă, ei folosesc ca surse de compuși organici de carbon, cum ar fi alcooli, acizi grași, alți acizi organici și carbohidrați. Fotoheterotrofele sunt anoxigenice. Bacteriile verzi fără sulf, cum ar fi Chloroflexus (klo-ro-flex'us), și bacteriile violete fără sulf, cum ar fi Rhodopseudomonas (ro-do-su-do-mo'nas), sunt fotoheterotrofe (vezi și pagina 323).

Chemoautotrofe

(hemoautotrofii folosesc electronii din compușii anorganici reduși ca sursă de energie și folosesc CO2 ca sursă principală de carbon. Fixează CO2 în ciclul Calvin-Benson (vezi Figura 5.26). Sursele anorganice de energie pentru aceste organisme includ hidrogen sulfurat (H2S) pentru Beggiatoa (bej-je-jeal-sulfura (S); tiooxidanii (NH3) pentru Nitrosomonas (ni-tro-so-mo'nas) pentru Nitrobacter (ni-tro-bak'ter) pentru Cupriavidus (kii' pre-a-vid-us) (Fe2+) oxid de carbon; carboxihidrogena (kar'boks-i-do-hi-dro-je-na) Energia derivată din oxidarea acestor compuși anorganici este în cele din urmă stocată în A11P, care este produsă prin fosforilarea oxidativă.

Chemoheterotrofe

Când discutăm despre fotoautotrofe, fotoheterotrofe și chemoautotrofe, este ușor să clasificam sursa de energie și sursa de carbon, deoarece acestea apar ca entități separate. Cu toate acestea, la chimioheterotrofe, distincția nu este la fel de clară, deoarece sursa de energie și sursa de carbon sunt de obicei același compus organic - glucoza, de exemplu. Chemoheterotrofii folosesc în mod specific electronii din atomii de hidrogen din compușii organici ca sursă de energie.

Heterotrofele sunt clasificate în continuare în funcție de sursa lor de molecule organice. Saprofitele trăiesc pe materie organică moartă, iar paraziții obțin nutrienți de la o gazdă vie. Majoritatea bacteriilor și toate ciupercile, protozoarele și animalele sunt chimioheterotrofe.

Bacteriile și ciupercile pot folosi o mare varietate de compuși organici pentru carbon și surse de energie. Acesta este motivul pentru care pot trăi în medii diverse. Înțelegerea diversității microbiene este interesantă din punct de vedere științific și importantă din punct de vedere economic. În unele situații, creșterea microbiană este nedorită, cum ar fi atunci când bacteriile care degradează cauciucul distrug garnitura sau talpa pantofului. Cu toate acestea, aceleași bacterii ar putea fi benefice dacă au descompus produse din cauciuc aruncate, cum ar fi anvelopele uzate. Rhodococcus erythropolis (ro-do-kok'kus er-i-throp' o-lis) este distribuit pe scară largă în sol și poate provoca boli la oameni și la alte animale. Cu toate acestea, aceeași specie este capabilă să înlocuiască atomii de sulf din petrol cu atomi de oxigen. O companie din Texas folosește în prezent R. erythropolis pentru a produce ulei desulfurat.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Aproape toți microbii importanți din punct de vedere medical aparțin căruia dintre cele patru grupuri menționate mai sus? 5-23

* * *

În continuare vom analiza modul în care celulele folosesc căile ATP pentru sinteza compușilor organici, cum ar fi carbohidrații, lipidele, proteinele și acizii nucleici.

Căi metabolice de utilizare a energiei

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-24 Descrieți principalele tipuri de anabolism și relația lor cu catabolismul.

Până acum ne-am gândit la producerea de energie. Prin oxidarea moleculelor organice, organismele produc energie prin respirație aerobă, respirație anaerobă și fermentație. O mare parte din această energie este emisă sub formă de căldură. Oxidarea metabolică completă a glucozei în dioxid de carbon și apă este considerată un proces foarte eficient, dar aproximativ 45% din energia glucozei se pierde sub formă de căldură. Celulele folosesc energia rămasă, care este prinsă în legăturile ATP, într-o varietate de moduri. Microbii folosesc ATP pentru a furniza energie pentru transportul substanțelor prin membranele plasmatice – procesul numit transport activ despre care am discutat în capitolul 4. Microbii folosesc, de asemenea, o parte din energia lor pentru mișcarea flagelară (discutat și în capitolul 4). Cu toate acestea, cea mai mare parte a ATP este utilizată în producerea de noi componente celulare. Această producție este un proces continuu în celule și, în general, este mai rapidă în celulele procariote decât în celulele eucariote.

Autotrofii își construiesc compușii organici prin fixarea dioxidului de carbon în ciclul Calvin-Benson (vezi Figura 5.26). Acest lucru necesită atât energie (ATP), cât și electroni (din oxidarea NADPH). Heterotrofii, dimpotrivă, trebuie să aibă o sursă pregătită de compuși organici pentru biosinteză - producerea componentelor celulare necesare, de obicei din molecule mai simple. Celulele folosesc acești compuși atât ca sursă de carbon, cât și ca sursă de energie. În continuare vom lua în considerare biosinteza câtorva clase reprezentative de molecule biologice: carbohidrați, lipide, aminoacizi, purine și pirimidine. În timp ce facem acest lucru, rețineți că reacțiile de sinteză necesită un aport net de energie.

Biosinteza polizaharidelor

Microorganismele sintetizează zaharuri și polizaharide. Atomii de carbon necesari pentru a sintetiza glucoza sunt derivați din intermediarii produși în timpul proceselor precum glicoliza și ciclul Krebs și din lipide sau aminoacizi. După sintetizarea glucozei (sau a altor zaharuri simple), bacteriile o pot asambla în polizaharide mai complexe, cum ar fi glicogenul. Pentru ca bacteriile să transforme glucoza în glicogen, unitățile de glucoză trebuie să fie fosforilate și legate. Produsul fosforilării glucozei este glucoza 6-fosfat. Un astfel de proces implică o cheltuială de energie, de obicei sub formă de ATP. Pentru ca bacteriile să sintetizeze glicogenul, o moleculă de ATP este adăugată la glucoză 6-fosfat

pentru a forma adenozin difosfoglucoză (ADPG) (Figura 5.29). Odată ce ADPG este sintetizat, este legat de unități similare pentru a forma glicogen.

Folosind o nucleotidă numită uridin trifosfat (UTP) ca sursă de energie și glucoză 6-fosfat, animalele sintetizează glicogenul (și mulți alți carbohidrați) din uridin difosfoglucoză, UDPG (vezi Figura 5.29). Un compus înrudit cu UDPG, numit UDP-N-acetilglucozamină (UDPNAc), este un material de pornire cheie în biosinteza peptidoglicanului,

Figura 5.29 Biosinteza polizaharidelor.

Cum sunt utilizate polizaharidele în celule?

substanță care formează pereții celulari bacterieni. UDPNAc se formează din fructoză 6-fosfat, iar reacția folosește și UTP.

Biosinteza lipidelor

Deoarece lipidele variază considerabil în compoziția chimică, ele sunt sintetizate printr-o varietate de căi. Celulele sintetizează grăsimi prin unirea glicerolului și acizilor grași. Porțiunea de glicerol a grăsimii este derivată din dihidroxiacetonă fosfat, un intermediar format în timpul glicolizei. Acizii grași, care sunt hidrocarburi cu lanț lung (hidrogenul legat de carbon), se formează atunci când fragmentele de doi atomi de carbon de acetil CoA sunt adăugate succesiv între ele (Figura 5.30). Ca și în cazul sintezei polizaharidelor, unitățile de construcție ale grăsimilor și ale altor lipide sunt legate prin reacții de sinteză de deshidratare care necesită energie, nu întotdeauna sub formă de ATP.

Cel mai important rol al lipidelor este de a servi ca componente structurale ale membranelor biologice, iar majoritatea lipidelor membranare sunt fosfolipide. O lipidă cu o structură foarte diferită, colesterolul, se găsește și în membranele plasmatice ale celulelor eucarvotice. Cerurile sunt lipide care sunt componente importante ale peretelui celular al bacteriilor acido-rezistente. Alte lipide, cum ar fi carotenoidele, furnizează pigmenții roșii, portocalii și galbeni ai unor microorganisme. Unele lipide formează porțiuni de molecule de clorofilă. Lipidele funcționează și în stocarea energiei. Amintiți-vă că produsele de descompunere a lipidelor după oxidarea bioaigică se alimentează în ciclul Krebs.

Biosinteza aminoacizilor și proteinelor

Aminoacizii sunt necesari pentru biosinteza proteinelor. Unii microbi, cum ar fi E. coli, conțin enzimele necesare utilizării materiilor prime, cum ar fi glucoza și sărurile anorganice, pentru sinteza tuturor aminoacizilor de care au nevoie. Organismele cu enzimele necesare pot sintetiza toți aminoacizii direct sau indirect din intermediarii metabolismului carbohidraților (Figura 5.31a). Alți microbi necesită ca mediul să furnizeze niște aminoacizi preformați.

Glicoliza

Glucoză

Gliceraldehidă

3-fosfat iv

Dihidroxiacetonă fosfat

Acid piruvic

Glicerol

O sursă importantă de precursori (intermediari) utilizați în sinteza aminoacizilor este ciclul Krebs. Adăugarea unei grupări amină la acidul piruvic sau la un acid organic adecvat din ciclul Kiebs transformă acidul într-un aminoacid. Acest proces se numește aminare. Dacă gruparea amină provine dintr-un aminoacid preexistent, procesul se numește transaminare (Figura 5.31b).

Majoritatea aminoacizilor din celule sunt destinaţi să fie blocuri pentru sinteza proteinelor. Proteinele joacă un rol major în celulă ca enzime, componente structurale și toxine, pentru a numi doar câteva utilizări. Simplu   Unirea aminoacizilor pentru a forma proteine presupune deshidratare

I'P'ds sinteza si necesita energie sub forma de ATP. Mecanismul

sinteza proteinelor implică gene și este discutată în capitolul 8.

Care este utilizarea principală a lipidelor în celule?

Amintiți-vă din capitolul 2 că moleculele informaționale ADN și ARN constau din unități repetate numite nucleotide, fiecare dintre ele constând dintr-o purină sau pirimidină, o pentoză (zahăr cu cinci atomi de carbon) și o grupare fosfat, zaharurile cu cinci atomi de carbon ale nucleotidelor sunt derivate fie din calea pentozei fosfatului, fie din calea pentozei fosfatului. Anumiți aminoacizi - acid aspartic, glicină și glutamina - obținuți din intermediari produși în timpul glicolizei și în ciclul Krebs participă la biosinteza purinelor și pirimidinelor (Figura 5.32). Carbonul și

Calea pentozo-fosfatului

calea

(a) Biosinteza aminoacizilor

Figura 5.37 Biosinteza aminoacizilor.

(a) Căi de biosinteză a aminoacizilor prin aminarea sau transaminarea intermediarilor metabolismului carbohidraților din ciclul Krebs, calea pentozei fosfat și calea Entner-Doudoroff, (b) Transaminare, un proces prin care se produc noi aminoacizi cu grupările amine din aminoacizi oizi. Acidul glutamic și acidul aspartic sunt ambii aminoacizi; ceilalți doi compuși sunt intermediari în ciclul Krebs.

Acid glutamic Acid oxaloacetic

(b) Procesul de transaminare

Transaminarea

Acidul a-cetoglutaric

COOH

eu

ch2

H — C— NH2

COOH

Acid aspartic

£1 Care este funcția aminoacizilor în celule?

Glicoliza

Glucoză

Glucoză

6-pnosfat

j. Calea fosfatului de pentoză sau
calea Entner-Doudoroff

Acid fosfogliceric

Glicina

Acid piruvic

pentoză; (zahăr cu cinci atomi de carbon)!

Figura 5.32 Biosinteza nucleotidelor purinice și pirimidinice.

Acetil CoA

acid spartic

Ciclul Krebs

atomii de azot derivați din acești aminoacizi formează inelele purinice și pirimidinice, iar energia pentru sinteza este asigurată de ATP. ADN-ul conține toate informațiile necesare pentru a determina structurile și funcțiile specifice celulelor. Atât ARN-ul, cât și ADN-ul sunt necesare pentru sinteza proteinelor. În plus, nucleotide precum ATP, NAD+ și NADP+ joacă un rol important în stimularea și inhibarea ratei metabolismului celular. Sinteza ADN-ului și ARN-ului din nucleotide va fi discutată în Capitolul 8.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De unde provin aminoacizii necesari pentru sinteza proteinelor? 5-24

Integrarea metabolismului

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

5-25 Definiți căile amfibolice.

Am văzut până acum că procesele metabolice ale microbilor produc energie din lumină, compuși anorganici și compuși organici. Au loc și reacții în care energia este folosită pentru biosinteză. Cu o asemenea varietate de activitate, vă puteți imagina că reacțiile anabolice și catabolice apar independent unele de altele în spațiu și timp. De fapt, reacțiile anabolice și catabolice sunt unite printr-un grup de intermediari comuni (identificați ca intermediari cheie în Figura 5.33). Atât reacțiile anabolice, cât și cele catabolice au în comun unele căi metabolice, cum ar fi ciclul Krebs. De exemplu, reacțiile din ciclul Krebs nu numai că participă

la oxidarea glucozei, dar produc și intermediari care pot fi transformați în aminoacizi. Căile metabolice care funcționează atât în anabolism, cât și în catabolism sunt numite căi amfibolice, ceea ce înseamnă că au un scop dublu.

Căile amfibolice unesc reacțiile care duc la descompunerea și sinteza carbohidraților, lipidelor, proteinelor și nucleotidelor. Astfel de căi permit să apară reacții simultane în care produsul de descompunere format într-o reacție este utilizat într-o altă reacție pentru a sintetiza un compus diferit și invers. Deoarece diferiți intermediari sunt comuni atât pentru reacțiile anabolice, cât și pentru cele catabolice, există mecanisme care reglează sinteza și căile de descompunere și permit acestor reacții să apară simultan. Un astfel de mecanism implică utilizarea diferitelor coenzime pentru căi opuse. De exemplu, NAD este implicat în reacții catabolice, în timp ce NADP este implicat în reacții anabolice. De asemenea, enzimele pot coordona reacțiile anabolice și catabolice prin accelerarea sau inhibarea ratelor reacțiilor biochimice.

! Depozitele de energie ale unei celule pot afecta, de asemenea, ratele reacțiilor bio- (.l.ciuk j!. De exemplu, dacă ATP începe să se acumuleze, o enzimă oprește glicoliza; acest control ajută la sincronizarea ratelor de glicoliză și a ciclului Krebs. Astfel, dacă consumul de acid citric crește, fie din cauza unei cereri de mai multă cale intermediară a citricului, fie din cauza unei cereri de mai multă cale intermediară de ATP anabolizantă. ciclu acid, glicoliza accelerează și satisface cererea @ Animație Metabolism: imaginea de ansamblu.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

1^ Rezumați integrarea căilor metabolice folosind sinteza peptidoglicanilor ca exemplu. 5-25

Glicoliza

Nucleotide

Glucoză

Carbohidrați (Peptidogiycan, glicogen)

Nucleotide purtătoare de zahăr

Glucoză 6-fosfat

Carbohidrați

Fructoză 1,6-difosfat

Giycero!

Acid fosfogliceric

Aminoacizi

Acid fosfoenolpiruvic

Acid malic

Acid succinic

Succinil CoA

CO;.

Gliceraldehidă

3-fosfat

Acid oxaloacetic

Lipidele

Dihidroxiacetonă fosfat

Acid piruvic

Acizi grași.

Acid citric

Acid fumaric

Ciclul Krebs

Acid izocitric

Acidul a-cetoglutaric

integrarea metabolismului. Sunt afișați intermediarii cheie. Deși nu

■ a ■ *d în figură, aminoacizii și riboza sunt utilizați în sinteza leotidelor de purină și pirimidină (vezi Figura 5.32). Săgețile duble indică căile amfibolice.

Care este scopul unei căi amfibolice?

Schița de studiu

MasteringMiiCROBIOLQGY

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Reacții catabolice și anabolice (p. 112-113)

Suma tuturor reacțiilor chimice dintr-un organism viu este cunoscută sub numele de metabolism.

Catabolismul se referă la reacții chimice care au ca rezultat descompunerea moleculelor organice mai complexe în substanțe mai simple. Reacțiile catabolice eliberează de obicei energie.

Anabolismul se referă la reacții chimice în care substanțe mai simple sunt combinate pentru a forma molecule mai complexe. Reacțiile anabolice necesită de obicei energie.

Energia reacțiilor catabolice este folosită pentru a conduce reacțiile anabolice.

Energia reacțiilor chimice este stocată în ATP.

Enzime (pag. 113-119)

Enzimele sunt proteine, produse de celulele vii, care catalizează reacțiile chimice prin scăderea energiei de activare.

Enzimele sunt în general proteine globulare cu forme tridimensionale caracteristice.

Enzimele sunt eficiente, pot funcționa la temperaturi relativ scăzute și sunt supuse diferitelor controale celulare.

Denumirea enzimelor (pag. 114)

Numele enzimelor se termină de obicei în -ase.

Cele șase clase de enzime sunt definite pe baza tipurilor de reacții pe care le catalizează.

Componente enzimatice (pag. 114-115)

Majoritatea enzimelor sunt holoenzime, constând dintr-o porțiune proteică (apoenzimă) și o porțiune neproteică (cofactor).

Cofactorul poate fi un ion metalic (fier, cupru, magneziu, mangan, zinc, calciu sau cobalt) sau o moleculă organică complexă cunoscută sub numele de coenzimă (NAI) +, NADP+, FMN, FAD sau coenzima A).

Mecanismul acțiunii enzimatice (pp. 115-116)

Când o enzimă și un substrat se combină, substratul este transformat și enzima este recuperată.

Enzimele se caracterizează prin specificitate, care este o funcție a situsurilor lor active.

Factori care influențează activitatea enzimatică (pag. 116-118)

La temperaturi ridicate, enzimele suferă denaturare și își pierd proprietățile catalitice; la temperaturi scăzute, viteza de reacție scade.

pH-ul la care activitatea enzimatică este maximă este cunoscut sub numele de pH optim.

Activitatea enzimatică crește pe măsură ce concentrația de substrat crește până când enzimele sunt saturate.

Inhibitorii competitivi concurează cu substratul normal pentru locul activ al enzimei. Inhibitorii necompetitivi acționează asupra altor părți ale apoenzimei sau asupra cofactorului și scad capacitatea enzimei de a se combina cu substratul nemal.

Inhibarea feedback-ului (pag. 118-119)

Inhibarea feedback-ului apare atunci când produsul final al unei căi metabolice inhibă activitatea unei enzime aproape de începutul căii.

Ribozime (pag. 119)

Ribozimele sunt molecule de ARN enzimatic care taie și îmbina ARN-ul în celulele eucariote.

Producția de energie (pp. 119-121)

Reacții de oxidare-reducere (pag. 120)

Oxidarea este îndepărtarea unuia sau mai multor electroni dintr-un substrat. Protonii (H") sunt adesea îndepărtați odată cu electronii.

Reducerea unui substrat se referă la câștigul său de unul sau mai mulți electroni.

De fiecare dată când o substanță este oxidată, alta este simultan redusă.

NAD+ este forma oxidată; NADH este forma redusă.

Glucoza este o moleculă redusă; energia este eliberată în timpul oxidării celulare a glucozei.

Generarea de ATP (pp. 120-121)

Energia eliberată în timpul anumitor reacții metabolice poate fi prinsă

pentru a forma ATP din ADP și © j (fosfat). Adăugarea lui a la a

molecula se numește fosforilare.

În timpul fosforilării la nivel de substrat, la ADP se adaugă o energie mare © dintr-un intermediar în catabolism.

În timpul fosforilării oxidative, energia este eliberată pe măsură ce electronii trec către o serie de acceptori de electroni (un lanț de transport de electroni) și în final către O2 sau alt compus anorganic.

În timpul fotofosforilării, energia din lumină este prinsă de clorofilă, iar electronii trec printr-o serie de acceptoare de electroni. Transferul de electroni eliberează energie utilizată pentru sinteza ATP.

Căi metabolice de producere a energiei (pag. 121)

O serie de reacții chimice catalizate enzimatic numite căi metabolice stochează energie și eliberează energie din moleculele organice.

Catabolismul carbohidraților (pag. 122-133)

Cea mai mare parte a energiei celulelor este produsă din oxidarea carbohidraților.

Glucoza este cel mai des folosit carbohidrat.

Cele două tvpes majore ale catabolismului glucozei sunt respirația, în care glucoza este complet descompusă, și fermentația, în care este descompusă parțial.

Glicoliza (p. 122-123)

Cea mai comună cale de oxidare a glucozei este glicoliza. Acidul piruvic este produsul final.

Două ATP și două molecule NADH sunt produse dintr-o moleculă de glucoză.

Alternative la glicoliză (pag. 123.125)

calea pentozei fosfat este folosită pentru metabolizarea zaharurilor cu cinci atomi de carbon; dintr-o moleculă de glucoză sunt produse o moleculă de ATP și 12 molecule de NADPH.

Calea Entner-l)oudoroff produce o moleculă de ATP și două molecule de NADPH dintr-o moleculă de glucoză.

Respirația celulară (pp. 125-130)

În timpul respirației, moleculele organice sunt oxidate. Energia este generată din lanțul de transport de electroni.

În respirația aerobă, O2 funcționează ca acceptor final de electroni.

În respirația anaerobă, acceptorul final de electroni este de obicei o moleculă anorganică, alta decât O2.

Decarboxilarea acidului piruvic produce o moleculă de CO2 și o grupă acetil.

Grupările acetil cu două atomi de carbon sunt oxidate în ciclul Krebs. Electronii sunt preluați de NAD+ și FAD pentru lanțul de transport de electroni.

Dintr-o moleculă de glucoză, oxidarea produce șase molecule de NADH, două molecule de FADH2 și două molecule de ATP.

Decarboxilarea produce șase molecule de CO2.

Electronii sunt aduși în lanțul de transport de electroni de către NADH.

Lanțul de transport de electroni este format din purtători, inclusiv flavoproteine, citocromi și ubichinone.

Protonii care sunt pompați peste membrană generează o forță motrice a protonilor pe măsură ce electronii se deplasează printr-o serie de acceptori sau purtători.

Energia produsă din mișcarea protonilor înapoi de-a lungul membranei este utilizată de ATP sintaza pentru a produce ATP din ADP și ©j.

La eucariote, purtătorii de electroni sunt localizați în membrana mitocondrială interioară; la procariote, purtătorii de electroni se află în membrana plasmatică.

La procariotele aerobe, 38 de molecule de ATP pot fi produse din oxidarea completă a unei molecule de glucoză în glicoliză, ciclul Krebs și lanțul de transport de electroni.

La eucariote, 36 de molecule de ATP sunt produse din oxidarea completă a unei molecule de glucoză.

Acceptorii finali de electroni în respirația anaerobă includ NO3”, SO42- și CO32”.

Producția totală de ATP este mai mică decât în respirația aerobă, deoarece doar o parte din ciclul Krebs funcționează în condiții anaerobe.

Fermentarea (p. 130-133)

Fermentarea eliberează energie din zaharuri sau din alte molecule organice prin oxidare.

O2 nu este necesar în fermentație.

26,1 wo molecule de ATP sunt produse prin fosforilarea la nivel de substrat.

Electronii îndepărtați din substrat reduc NAD+.

Acceptorul final de electroni este o moleculă organică.

În fermentația acidului lactic, acidul piruvic este redus de NADH la acid lactic.

3D. În fermentația alcoolică, acetaldehida este redusă de NADH la

• produce etanol.

31. Fermentatorii heterolactici pot folosi calea pentozei fosfat pentru a produce acid lactic și etanol.

Catabolismul lipidelor și proteinelor (p. 133-135)

Lipazele hidrolizează lipidele în glicerol și acizi grași.

Acizii grași și alte hidrocarburi sunt catabolizate prin betaoxidare.

Produsele metabolice pot fi descompuse în continuare în glicoliză și ciclul Krebs.

Înainte ca aminoacizii să poată fi catabolizați, aceștia trebuie transformați în diferite substanțe care intră în ciclul Krebs.

Reacțiile de transaminare, decarboxilare și dehidrogenare transformă aminoacizii pentru a fi catabolizați.

Teste biochimice și identificare bacteriană (p. 135-137)

Bacteriile și drojdia pot fi identificate prin detectarea acțiunii enzimelor lor.

Testele de fermentare sunt folosite pentru a determina dacă un organism poate fermenta un carbohidrat pentru a produce acid și gaz.

Fotosinteza (p. 137-139)

Fotosinteza este conversia energiei luminoase de la soare în energie chimică; energia chimică este folosită pentru fixarea carbonului.

Reacțiile dependente de lumină:

Fotofosforilarea (pag. 138)

-. (.hlorofila a este folosită de plantele verzi, alge și cianobacterii; se găsește în membranele tilacoide.

Electronii din clorofilă trec printr-un lanț de transport de electroni, din care Al P este produs prin chemiosmoză.

Fotosistemele sunt alcătuite din clorofilă și alți pigmenți împachetati în membranele tilacoide.

În fotofosforilarea ciclică, electronii revin la clorofilă.

În fotofosforilarea neciclică, electronii sunt utilizați pentru a reduce NADP'. Electronii din H_2O sau H_2S îi înlocuiesc pe cei pierduți din clorofilă.

Când H_2O este oxidat de plante verzi, alge și cianobacterii, se produce O_2; când H_2S este oxidat de bacteriile cu sulf,

S° se produc granule.

Reacțiile independente de lumină:

Ciclul Calvin-Benson (pag. 138-139)

CO_2 este folosit pentru a sintetiza zaharuri în ciclul Calvin-Benson.

Un rezumat al producției de energie

Mecanisme (p. 139-140)

Lumina soarelui este transformată în energie chimică în reacțiile de oxidare-reducere desfășurate de fototrofi. Chemotrofei pot folosi această energie chimică.

În reacțiile de oxidare-reducere, energia este derivată din transferul de electroni.

Pentru a produce energie, o celulă are nevoie de un donor de electroni (organic sau anorganic), un sistem de purtători de electroni și un acceptor final de electroni (organic sau anorganic).

Diversitatea metabolică între organisme

(pag. 140-143)

Fotoautotrofele obțin energie prin fotofosforilare și fixează carbonul din CO2 prin ciclul Calvin-Benson pentru a sintetiza compuși organici.

Cianobacteriile sunt fototrofe oxigenate. Bacteriile verzi și bacteriile violete sunt fototrofe anoxigenice.

Fotoheterotrofei folosesc lumina ca sursă de energie și un compus organic pentru sursa lor de carbon și donatorul de electroni.

Chemoautotrofii folosesc compuși anorganici ca sursă de energie și dioxid de carbon ca sursă de carbon.

Chemoheterotrofii folosesc molecule organice complexe ca surse de carbon și energie.

Căi metabolice de utilizare a energiei (pag. 144-145)

Biosinteza polizaharidelor (pag. 144)

Din ADPG se formează glicogenul.

UDPNAc este materialul de pornire pentru biosinteza peptidoglicanului.

Biosinteza lipidelor (pag. 144)

Lipidele sunt sintetizate din acizi grași și glicerol.

Glicerolul este derivat din dihidroxiacetonă fosfat, iar acizii grași sunt formați din acetil CoA.

Biosinteza aminoacizilor și proteinelor (pag. 144-145)

Aminoacizii sunt necesari pentru biosinteza proteinelor.

Toți aminoacizii pot fi sintetizați fie direct, fie indirect din intermediarii metabolismului carbohidraților, în special din ciclul Krebs.

Biosinteza purinelor și pirimidinelor (pag. 146)

Zaharurile care compun nucleotidele sunt derivate fie din calea pentozei fosfat, fie din calea Entner-Doudoroff.

Atomii de carbon și azot din anumiți aminoacizi formează coloana vertebrală a purinelor și pirimidinelor.

Integrarea metabolismului (pp. 146-147)

Reacțiile anabolice și catabolice sunt integrate printr-un grup de intermediari comuni.

Astfel de căi metabolice integrate sunt denumite căi amfibolice.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Utilizați următoarele diagrame (a), (b) și (c) pentru întrebarea 1.

Glucoză


C — C — C — C — C — C

eu

eu

Gliceraldehidă Dihidroxiacetonă

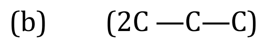
fosfat 3-fosfat


(C — C — C—®) (C —C —C—©)

eu

Două molecule de

acid piruvic


(b) (2C —C—C)

Numiți căile diagramate în părțile (a), (b) și (c) ale figurii.

Arătați unde este catabolizat glicerolul și unde sunt acizii grași

catabolizat. '

Arată unde este catabolizat acidul glutamic (un aminoacid):

H

HOOC — CH2—CH2 — C — COOH

NH2

Arată cum sunt legate aceste căi.

Unde este necesar ATP în căile (a) și (b)?

Unde este eliberat CO_2 în căile (b) și (c)?

Arată unde este catabolizată o hidrocarbură cu lanț lung, cum ar fi petrolul.

Unde este utilizat și produs NADH (sau FADH, sau NADPH) în aceste căi?

Identificați patru locuri în care sunt integrate căile anabolice și catabolice.

unde inhibitorul competitiv- se va lega

unde inhibitorul necompetitiv se va lega

care dintre cele patru elemente ar putea fi inhibitorul în inhibarea feedback-ului

Ce efect vor avea reacțiile din (a), (b) și (c)?

Competitiv Inhibitor necompetitiv inhibitor

O enzimă și un substrat sunt combinate. „Viteza de reacție începe așa cum se arată în graficul următor. Pentru a completa graficul, arătați efectul creșterii concentrației de substrat asupra unei concentrații constante de enzimă. Arătați efectul creșterii temperaturii.

Concentrarea substratului ?

Temperatură

Definiți oxido-reducerea și diferențiați următorii termeni:

respiratie aeroba si anaeroba

respiratie si fermentatie

fotofosforilarea ciclică și neciclică

Există trei mecanisme pentru fosforilarea ADP pentru a produce ATP. Scrieţi numele mecanismului care descrie fiecare dintre reacţiile din tabelul următor.

ATP generat prin **reacție**

Toate reacțiile biochimice producătoare de energie care apar în celule, cum ar fi fotofosforilarea și glicoliza, sunt reacții.

Completați următorul tabel cu sursa de carbon și sursa de energie a fiecărui tip de organism.

Organism Sursa de carbon Sursa de energie

Fotoautotrof a. b.

Fotoheterotrof c. d.

Chemoautotrop e. t.

Chemoheterotrop g. h

Scrieți propria definiție a mecanismului chemiosmotic al generării A1 P. În Figura 5.16, marcați următoarele folosind litera corespunzătoare:

partea acidă a membranei

partea cu sarcină electrică pozitivă

energie potenţială

energie cinetică

De ce trebuie reoxidat NADH? Cum se întâmplă acest lucru într-un organism care utilizează respirația? Fermentaţie?

Ce tip de nutriție este un microb incolor care folosește

ciclul Calvin, folosește H_2 ca donor de electroni pentru ETC-ul său și folosește elementul S ca acceptor final de electroni în ETC?

Alegere Multiplă

Care substanță din următoarea reacție este redusă?



CH3 ch3

Acetaldehidă Etanol .

acetaldehida c. etanol

NADH d. NAD+

Care dintre următoarele reacții produce cele mai multe molecule de ATP în timpul metabolismului aerob?

glucoză -> glucoză 6-fosfat

acid fosfoenolpiruvic -> acid piruvic

glucoză -> acid piruvic

acetil CoA -> CO_2 + H_2O

acid succinic —> acid fumaric

Care dintre următoarele procese nu generează ATP?

fotofosforilarea

ciclul Calvin-Benson

fosforilarea oxidativă

fosforilarea la nivel de substrat

nici una dintre cele de mai sus

Care dintre următorii compuși are cea mai mare cantitate de energie pentru o celulă?

CO_2

ATP

glucoză

O_2

acid lactic

Care dintre următoarele este cea mai bună definiție a ciclului Krebs?

oxidarea acidului piruvic

modul în care celulele produc CO_2

o serie de reacții chimice în care NADH este produs din oxidarea acidului piruvic

o metodă de producere a ATP prin fosforilarea ADP

o serie de reacții chimice în care ATP este produs din oxidarea acidului piruvic

Care dintre următoarele este cea mai bună definiție a respirației?

o secvență de molecule purtătoare cu O_2 ca acceptor final de electroni

o secvență de molecule purtătoare cu o moleculă anorganică ca acceptor final de electroni

o metodă de generare a ATP

oxidarea completă a glucozei la CO_2 și H_2O

o serie de reacții în care acidul piruvic este oxidat la CO_2 și H_2O

Utilizați următoarele opțiuni pentru a răspunde la întrebările 7-10.

E. coli crescând în bulion de glucoză la 35°C cu O_2 timp de 5 zile

E. coli crescând în bulion de glucoză la 35°C fără O_2 timp de 5 zile

atât a cât și b

nici a, nici b

7J Care cultură produce cel mai mult acid lactic?

Care cultură produce cel mai mult ATP?

Ce cultură folosește NAD „*"?

Care cultură folosește cea mai mare glucoză?

Gândire critică

Explicați de ce, chiar și în condiții ideale, Streptococul crește încet.

Graficul următor arată viteza normală de reacție a unei enzime și a substratului acesteia (albastru) și viteza când este prezent un exces de inhibitor competitiv (roșu). Explicați de ce graficul apare așa cum apare.

Comparați și contrastați catabolismul carbohidraților și producția de energie la următoarele bacterii:

Pseudomonas, un chemoheterotrop aerob

Spirulina, un fotoautotrop oxigenat

Ectothiorhodospira, un fotoautotrop anoxigen

Cât de mult ATP s-ar putea obține din oxidarea completă a unei molecule de glucoză? Dintr-o moleculă de grăsime de unt care conține un glicerol și trei lanțuri de 12 atomi de carbon?

Thiobacillus chimioautotrop poate obține energie din oxidarea arsenului (As3+ -> As5"). Cum oferă această reacție energie? Cum pot folosi oamenii această bacterie?

Aplicații clinice

Haemophilus influenzae necesită hemină (factor X) pentru a sintetiza citocromi și NAD (factor V) din alte celule. Pentru ce folosește acești doi factori de creștere? Ce boli provoacă H. influenzae?*

Medicamentul Hivid, numit și ddC, inhibă sinteza ADN-ului. Este utilizat pentru tratarea infecției cu HIV și a SIDA. Comparați următoarea ilustrație a ddC cu Figura 2.16 de la pagina 46. Cum funcționează acest medicament?

HH

Enzima bacteriană streptokinaza este utilizată pentru a digera fibrina (cheaguri de sânge) la pacienții cu ateroscleroză. De ce injectarea de streptokinază nu provoacă o infecție cu streptococ? De unde știm că streptokinaza va digera numai fibrina și nu țesuturile bune?

W

Când vorbim despre creșterea microbiană, ne referim într-adevăr la numărul de celule, nu la dimensiunea celulelor. Microbii care „cresc” cresc în număr, acumulându-se în colonii (grupuri de celule suficient de mari pentru a fi văzute fără microscop) de sute de mii de

celule sau populații de miliarde de celule. Deși celulele individuale se dublează aproximativ în mărime pe parcursul vieții, această schimbare nu este foarte semnificativă în comparație cu creșterile de dimensiune observate în timpul vieții plantelor și animalelor.

Multe bacterii supraviețuiesc și cresc încet în medii sărace în nutrienți prin formarea de biofilme. Bacteriile Serratia marcescens din fotografie au format un biofilm pe o bucată de plastic. Biofilmele sunt adesea surse de infecții asociate îngrijirii sănătății, cum ar fi cea descrisă în Cazul Clinic.

Populațiile microbiene pot deveni incredibil de mari într-un timp foarte scurt. Înțelegând condițiile necesare creșterii microbiene, putem determina fluxul pentru a controla creșterea microbilor care provoacă boli și alterarea alimentelor. De asemenea, putem învăța cum să încurajăm creșterea microbilor folositori și a celor pe care dorim să-i studiem.

În acest capitol vom examina cerințele fizice și chimice pentru creșterea microbiană, diferitele tipuri de medii de cultură, diviziunea celulară bacteriană, fazele creșterii microbiene și metodele de măsurare a creșterii microbiene.

Cerințele pentru creștere

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

6-1 Clasificați microbii în cinci grupe pe baza intervalului de temperatură preferat.

6-2 Identificați cum și de ce este controlat pH-ul mediului de cultură.

6-3 Explicați importanța presiunii osmotice pentru creșterea microbiană.

6-4 Numiți o utilizare pentru fiecare dintre cele patru elemente (carbon, azot, sulf și fosfor) necesare în cantități mari pentru creșterea microbiană.

6-5 Explicați cum sunt clasificați microbii pe baza cerințelor de oxigen.

6-6 Identificați modalități prin care aerobii evită deteriorarea de către formele toxice de oxigen.

Cerințele pentru creșterea microbiană pot fi împărțite în două categorii principale: fizice și chimice. Aspectele fizice includ temperatura, pH-ul și presiunea osmotică. Cerințele chimice includ surse de carbon, azot, sulf, fosfor, oxigen, oligoelemente și factori organici de creștere.

Cerințe fizice

Temperatură

Majoritatea microorganismelor cresc bine la temperaturile favorizate de oameni. Cu toate acestea, anumite bacterii sunt capabile să crească la temperaturi extreme care ar împiedica cu siguranță supraviețuirea aproape tuturor organismelor eucariote.

Microorganismele sunt clasificate în trei grupe primare pe baza intervalului lor preferat de temperatură: psicrofile (microbi iubitoare de frig), mezofile (microbi iubitoare de temperatură moderată) și termofile (microbi iubitoare de căldură). Majoritatea bacteriilor cresc doar într-un interval limitat de temperaturi, iar temperaturile lor maxime și minime de creștere sunt doar

Caz clinic: Glpwrng în întuneric Reginald MacGruder, un investigator la Cen-ers for Disease Control and Prevention (CDC) din Atlanta, Georgia, are un mister pe mâini. La începutul acestui an, el a fost implicat în rechemarea unui nepa i intravenos în soluție, care a fost acuzat că a cauzat infecții ale fluxului sanguin cu Pseudomonas fluorescens la pacienți din patru state diferite. Se părea că totul era sub control, dar acum, la trei luni de la rechemare, 19 pacienți xr. \ j _ statele dezvoltă aceleași infecții ale fluxului sanguin cu P. fluorescens. Dr. MacGruder nu are sens; cum a putut această infecție să apară din nou atât de curând după rechemare? Ar putea fi contaminat un alt lot de heparină?

Ce este P. fluorescens? Citiți mai departe pentru a afla.

aproximativ 30°C una de alta. Ele cresc slab la temperaturile extreme înalte și scăzute din intervalul lor.

Fiecare specie bacteriană crește la anumite temperaturi minime, optime și maxime. Temperatura minimă de creștere este cea mai scăzută temperatură la care specia va crește. Temperatura optimă de creștere este temperatura la care specia crește cel mai bine. Temperatura maximă de creștere este cea mai ridicată temperatură la care este posibilă creșterea. Prin reprezentarea grafică a răspunsului de creștere pe un interval de temperatură, putem vedea că temperatura optimă de creștere este de obicei aproape de vârful intervalului; peste această temperatură, rata de creștere scade rapid (Figura 6.1). Acest lucru se întâmplă probabil pentru că temperatura ridicată a inactivat sistemele enzimatice necesare ale celulei.

Intervalele și temperaturile maxime de creștere care definesc bacteriile ca fiind psicrofile, mezofile; sau termofilele nu sunt definite rigid. Psicrofilii, de exemplu, au fost inițial considerați pur și simplu organisme capabile să crească la 0°C. Cu toate acestea, par să existe două grupuri destul de distincte capabile să crească la acea temperatură. Un grup, compus din psihrofili în sensul cel mai strict, poate crește la 0°C, dar are o temperatură optimă de creștere de aproximativ 15°C. Majoritatea acestor organisme sunt atât de sensibile la temperaturi mai ridicate încât nici măcar nu vor crește într-o cameră destul de caldă (25°C). Găsite mai ales în adâncurile oceanelor sau în anumite regiuni polare, astfel de organisme cauzează rareori probleme în conservarea alimentelor. Celălalt grup care poate

crește la 0°C are temperaturi optime mai ridicate, de obicei 20-30°C și nu poate crește peste aproximativ 40 C. Organismele de acest tip sunt mult mai frecvente decât psihrofilele și sunt cele mai probabil întâlnite în alterarea alimentelor la temperatură scăzută deoarece cresc destul de bine la temperaturile frigiderului. Vom folosi termenul de psicrotrofi, pe care microbiologii alimentari îl favorizează, pentru acest grup de microorganisme de alterare.

Refrigerarea este cea mai comună metodă de conservare a alimentelor de uz casnic. Se bazează pe principiul că ratele de reproducere microbiană scad la temperaturi scăzute. Deși microbii supraviețuiesc de obicei chiar și la temperaturi subîngheț (ar putea deveni complet latenți), ei scad treptat ca număr. Unele specii declin mai repede decât altele. Psicrotrofele de fapt nu cresc bine la temperaturi scăzute, decât în comparație cu alte organisme; cu timpul, totuși, sunt capabili să degradeze încet alimentele. O astfel de alterare ar putea lua forma miceliului de mucegai, mucegai pe suprafețele alimentelor, sau negustori sau culori neplăcute în alimente, „temperatura din interiorul unui frigider reglat corespunzător va încetini foarte mult creșterea majorității organismelor de deteriorare și va preveni complet creșterea tuturor bacteriilor patogene, cu excepția câtorva bacterii. Figura 6.2 ilustrează importanța temperaturilor scăzute pentru prevenirea creșterii organismelor de alterare și boli. Când cantități mari de alimente trebuie să fie refrigerate, este important să aveți în vedere viteza de răcire lentă a unei cantități mari de alimente calde (Figura 6.3).

Mezofilii, cu o temperatură optimă de creștere de 25-40 C, sunt cel mai comun tip de microbi. Organismele care s-au adaptat să trăiască în corpurile animalelor au de obicei o temperatură optimă apropiată de cea a gazdelor lor. Temperatura optimă pentru multe bacterii patogene este de aproximativ 37°C, iar incubatoarele pentru culturile clinice sunt de obicei setate la această temperatură, mezofilele includ majoritatea organismelor comune de deteriorare și boli.

hermofilele sunt microorganisme capabile să se dezvolte la temperaturi ridicate. Multe dintre aceste organisme au o temperatură optimă de creștere de 50-60°C, aproximativ temperatura apei de la robinetul de apă fierbinte. Astfel de temperaturi pot fi atinse și în solul luminat de soare și în apele termale precum izvoarele termale. În mod remarcabil, mulți termofili nu pot crește la temperaturi mai mici

aproximativ 45°C. Endosporii formați din bacterii termofile sunt neobișnuit de rezistenți la căldură și pot supraviețui tratamentului termic obișnuit dat conservelor. Deși temperaturile ridicate de depozitare pot face ca endosporii supraviețuitori să germineze și să crească, stricând astfel alimentele, aceste bacterii termofile nu sunt considerate o problemă de sănătate publică. Termofilele sunt importante în grămezile de compost organic (vezi Figura 27.10 la pagina 782), în care temperatura poate crește rapid până la 50-60°C.

Unii microbi, membri ai Archaea (pagina 4), au o temperatură optimă de creștere de 80°C sau mai mare. Aceste organisme sunt numite hipertermofile, sau uneori termofile extreme. Majoritatea acestor organisme trăiesc în izvoare termale asociate cu activitatea vulcanică; sulful este de obicei important în activitatea lor metabolică. Recordul cunoscut pentru creșterea și replicarea bacteriilor la temperaturi ridicate este de aproximativ 121°C în

apropierea gurilor hidrotermale de adâncime. Vedeți caseta de pe pagina de față. Presiunea imensă din adâncurile oceanului împiedică apa să fiarbă chiar și la temperaturi cu mult peste 100°C.

PH

Amintiți-vă din capitolul 2 (paginile 34-35) că pH-ul se referă la aciditatea sau alcalinitatea unei soluții. Majoritatea bacteriilor cresc cel mai bine într-un interval îngust de pH aproape de neutralitate, între pH-ul 6,5 și 7,5. Foarte puține bacterii cresc la un pH acid sub aproximativ pH 4. Acesta este motivul pentru care o serie de alimente, cum ar fi varza murată, murăturile și multe brânzeturi, sunt protejate de deteriorarea de către acizii produși prin fermentația bacteriană. Cu toate acestea, unele bacterii, numite acidofile, sunt remarcabil de tolerante la aciditate. Un tip de bacterii chimioautotrofe, care se găsește în apa de drenaj din minele de cărbune și oxidează sulful pentru a forma acid sulfuric, poate supraviețui la o valoare a pH-ului de 1. Mucegaiurile și drojdiile vor crește într-un interval de pH mai mare decât bacteriile, dar pH-ul optim al mucegaiurilor și drojdiilor este, în general, sub cel al bacteriilor, de obicei aproximativ pH-ul 5 până la 6, dar inhibă creșterea microbiană, dar este, de asemenea, rară folosită pentru a păstra alimentele.

Când bacteriile sunt cultivate în laborator, ele produc adesea acizi care în cele din urmă interferează cu propria lor creștere. Pentru a neutraliza acizii și a menține pH-ul corespunzător, în mediul de creștere sunt incluse tampoane chimice. Peptonele și aminoacizii din unele medii acționează ca tampoane, iar multe medii conțin și săruri de fosfat. Sărurile de fosfat au avantajul de a-și prezenta efectul de tamponare în intervalul de creștere a pH-ului majorității bacteriilor. De asemenea, sunt netoxice; de fapt, ele furnizează fosfor, un nutrient esențial. .

Presiunea osmotică

Microorganismele își obțin aproape toți nutrienții în soluție din apa din jur. Astfel, au nevoie de apă pentru creștere, iar compoziția lor este de 80-90% apă. Presiunile osmotice ridicate au picioarele de a elimina apa necesară dintr-o celulă. Atunci când o celulă microbiană se află într-o soluție a cărei concentrație de substanțe dizolvate este mai mare decât în celulă (mediul este hipertonic pentru celulă), apa celulară trece prin membrana plasmatică la concentrația mare de substanță dizolvată. (Vedeți discuția despre osmoză din Capitolul 4, paginile 9 i-93, și revizuiți Figura 4.18 pentru cele trei tipuri de probleme de ioni pe care le poate întâlni o celulă.) Această pierdere osmotică nu provoacă plasmoliza sau contracția citoplasmei celulei (Figura 6.4).

Impoința acestui fenomen este că creșterea celulei este inhibată pe măsură ce membrana plasmatică se îndepărtează de celulă. Adăugarea de săruri (sau alte substanțe dizolvate) într-o soluție, iar creșterea rezultată a presiunii osmotice poate fi folosită pentru a conserva alimentele. Peștele sărat, mierea și laptele condensat îndulcit sunt prevenite prin mecanismul de atragere a apei sau a zahărului. din orice celule microbiene care sunt prezente

Viața în Extrem

Până când oamenii au explorat fundul oceanului adânc, oamenii de știință credeau că doar câteva forme de viață ar putea supraviețui în acel mediu de înaltă presiune, complet întunecat și sărac în oxigen.

'ien, în 1977, Alvin, submersibilul de adâncime a transportat doi oameni de știință la 2600 de metri sub suprafață, la Rift Galapagos (la aproximativ 350 km nord-est de Insulele Galapagos). Acolo, în mijlocul întinderii vaste de roci de bazalt sterpe, oamenii de știință au găsit oaze de viață neașteptat de bogate. Apa supraîncălzită de sub fundul mării se ridică prin fracturi din scoarța terestră numite orificii de ventilație. Covoarele de bacterii cresc de-a lungul părților laterale ale orificiilor de ventilație, unde temperaturile depășesc 100°C (vezi figura).

Ecosistemul Gurilor Hidrotermale

Viața de la suprafața oceanelor lumii depinde de organisme fotosintetice, cum ar fi plantele și algele, care valorifică energia soarelui pentru a fixa dioxidul de carbon (CO?) pentru a produce carbohidrați. La fundul oceanului adânc, unde nu pătrunde lumina, fotosinteza nu este posibilă. Oamenii de știință au descoperit că producătorii primari de pe fundul oceanului sunt bacteriile chimioautotrofe. Folosind energie chimică din hidrogen sulfurat (H2S) ca sursă de energie pentru fixarea CO2, chimioautotrofei creează un mediu care susține formele de viață superioare. Gurile hidrotermale de pe fundul mării furnizează H2S și CO2.

Produse noi din aerisire hidrotermale

Ciupercile și bacteriile terestre au avut . un impact major asupra dezvoltării compușilor antimicrobieni și antitumorali începând cu anii 1930. Gurile hidrotermale sunt următoarea frontieră în căutarea de noi medicamente. În 2010, s-a demonstrat că o peptidă produsă de Thermovibrio amonificans induce apoptoza (moartea celulară) și, prin urmare, o potențială activitate anticanceroasă. < în prezent, cercetătorii cultivă Pyrococcus furiosus deoarece produce combustibili alternativi, hidrogen gazos și butanol. ADN-polimerazele (enzime care sintetizează ADN-ul) izolate din două arhee care trăiesc în apropierea orificiilor de ventilație de adâncime sunt utilizate în reacția în lanț a polimerazei (PCR), o tehnică de realizare a multor copii ale ADN-ului. În PCR, ADN-ul monocatenar este obținut prin încălzirea unui fragment de cromozom la 98"C și răcirea acestuia, astfel încât ADN polimeraza să poată copia fiecare catenă. ADN polimeraza din Thermococcus litoralis, numit Ventp, și din Pyrococcus, numit

Deep VentR, nu sunt denaturate la 98°C. Aceste enzime pot fi utilizate în termocicloare automate pentru a repeta ciclurile de încălzire și răcire, permițând realizarea multor copii ale ADN-ului cu ușurință și rapiditate.

eu 1

1 m

Un biofilm microbian alb este vizibil pe acest orificiu hidrotermal de adâncime. Apa este emisă prin fundul oceanului la temperaturi de peste 100°C.

NaCl 0,85%

(a) Celulă în soluție izotonă. În aceste condiții, concentrația de dizolvat în celulă este echivalentă cu o concentrație de soluție de 0,85% clorură de sodiu (NaCl). Vezi Figura 4.18.

(b) Celulă plasmolizată în soluție hipertonică. Dacă concentrația de substanțe dizolvate precum NaCl este mai mare în mediul înconjurător decât în celulă (mediul este hipertonic), apa tinde să părăsească celula. Creșterea celulei este inhibată.

Figura 6.4 Plasmoliza.

SSII De ce este presiunea osmotică un factor important în creșterea microbiană?

si astfel impiedica cresterea lor. Aceste efecte ale presiunii osmotice sunt aproximativ legate de numărul de molecule și ioni dizolvați într-un volum de soluție.

Unele organisme, numite halofile extreme, s-au adaptat atât de bine la concentrații mari de sare încât de fapt au nevoie de ele pentru creștere. În acest caz, ei pot fi numiți halofili obligatorii. Organismele din ape sărate precum Marea Moartă necesită adesea aproape 30% sare, iar bucla de inoculare (un dispozitiv pentru manipularea bacteriilor în laborator) folosită pentru a le transfera trebuie mai întâi scufundată într-o soluție de sare saturată. Mai frecvente sunt halofilele facultative, care nu necesită concentrații mari de sare, dar sunt capabile să crească la concentrații de sare de până la 2%, o concentrație care inhibă creșterea multor alte organisme. Câteva specii de halofili facultativi pot tolera chiar și 15% sare.

Cu toate acestea, majoritatea microorganismelor trebuie să fie cultivate într-un mediu care este aproape în totalitate apă. De exemplu, concentrația de agar (o polizaharidă complexă izolată din alge marine) utilizată pentru a solidifica mediile de creștere microbiană este de obicei de aproximativ 1,5%. Dacă se utilizează concentrații semnificativ mai mari, presiunea osmotică crescută poate inhiba creșterea unor bacterii.

Dacă presiunea osmotică este neobișnuit de scăzută (mediul este hipotonic) - cum ar fi apa distilată, de exemplu - apa tinde să intre în celulă, mai degrabă decât să iasă din ea. Unii microbi care au un perete celular relativ slab pot fi lizați printr-un astfel de tratament.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce hipertermofilele care cresc la temperaturi de peste 100°C sunt aparent limitate la adâncimi oceanice? 6-1

În afară de controlul acidității, care este avantajul utilizării sărurilor de fosfat ca tampon în mediile de creștere? 6-2

De ce ar putea civilizațiile primitive să fi folosit tehnici de conservare a alimentelor care se bazează pe presiunea osmotică? 6-3

Cerințe chimice

Carbon

Pe lângă apă, una dintre cele mai importante cerințe pentru creșterea microbiană este carbonul. Carbonul este coloana vertebrală structurală a materiei vii; este necesar pentru toți compușii organici care alcătuiesc o celulă vie. Jumătate din greutatea uscată a unei celule bacteriene tipice este carbonul. Chemoheterotrofii își obțin cea mai mare parte din

carbon din sursa de energie - materiale organice, cum ar fi proteinele, carbohidrații și lipidele. Chemoautotrofele și fotoautotrofele își obțin carbonul din dioxid de carbon.

Azot, sulf și fosfor

Pe lângă carbon, microorganismele au nevoie de alte elemente pentru a sintetiza materialul celular. De exemplu, sinteza proteinelor necesită cantități considerabile de azot, precum și puțin sulf. Sintezele de ADN și ARN necesită, de asemenea, azot și puțin fosfor, la fel ca și sinteza ATP, moleculă atât de importantă pentru stocarea și transferul energiei chimice în interiorul celulei. Azotul reprezintă aproximativ 14% din greutatea uscată a unei celule bacteriene, iar sulful și fosforul constituie împreună aproximativ încă 4%.

Organismele folosesc azotul în primul rând pentru a forma grupa amino a aminoacizilor proteinelor. Multe bacterii îndeplinesc această cerință prin descompunerea materialului care conține proteine și reîncorporarea aminoacizilor în proteine nou sintetizate și alți compuși care conțin azot. Alte bacterii folosesc azotul din ionii de amoniu (NH4'r), care sunt deja sub formă redusă și se găsesc de obicei în materialul celular organic. Alte bacterii sunt capabile să obțină azot din nitrați (compuși care se disociază pentru a da ionul de azotat, NO3“, în soluție).

Unele bacterii importante, inclusiv multe dintre cianobacteriile de fotosinteză (pagina 137), utilizează azot gazos (NJ) direct din atmosferă. Acest proces se numește fixare a azotului. Unele organisme care pot folosi această metodă trăiesc liber, mai ales în sol, dar altele trăiesc în cooperare în simbioză cu rădăcinile leguminoase precum trifoiul, soia, lucerna, fasolea și mazărea. Azotul fixat în simbioză este folosit atât de plantă, cât și de bacterie (vezi capitolul 27).

Sulful este folosit pentru a sintetiza aminoacizi și vitamine care conțin sulf, cum ar fi tiamina și biotina. Sursele naturale importante de sulf includ ionul sulfat (SO42-), hidrogenul sulfurat și aminoacizii care conțin sulf.

Fosforul este esențial pentru sinteza acizilor nucleici și a fosfolipidelor membranelor celulare. Printre alte locuri, se găsește și în legăturile energetice ale ATP. O sursă de fosfor este ionul fosfat (PO43-). Potasiul, magneziul și calciul sunt, de asemenea, elemente de care microorganismele le necesită, adesea ca cofactori pentru enzime (vezi capitolul 5, paginile 114-115).

Oligoelemente

Microbii necesită cantități foarte mici de alte elemente minerale, cum ar fi fier, cupru, molibden și zinc; acestea sunt denumite oligoelemente. Majoritatea sunt esențiale pentru funcțiile anumitor enzime, de obicei ca cofactori. Deși aceste elemente sunt uneori adăugate într-un mediu de laborator, de obicei se presupune că sunt prezente în mod natural în apa de la robinet și în alte componente ale mediului. Majoritatea apelor distilate conțin cantități adecvate, dar apa de la robinet este uneori specificată pentru a se asigura că aceste urme de minerale vor fi prezente în mediile de cultură.

Oxigen

' > a . „Accusa de a ne gândi la oxigenul molecular (O2) ca o necesitate a vieții, dar este de fapt, într-un anumit sens, un gaz otrăvitor. Foarte puțin oxigen molecular a existat în atmosferă în cea mai mare parte a istoriei Pământului - de fapt, este posibil ca lite să nu aibă un ^s^n dacă oxigenul ar fi fost prezent. Cu toate acestea, multe forme actuale de ' . Sistemele lice care necesită oxigen pentru respirația aerobă. După cum am văzut, atomii de hidrogen care au fost îndepărtați din rezervoarele organice se combină cu oxigenul pentru a forma apă, așa cum se întâmplă în Figura 5.14 (pagina 127).

CAPACITATE 6.1 Efectul oxigenului asupra creșterii diferitelor tipuri de bacterii

c. Obligatoriu   d. Aerotolerant e. Microaerofili

Anaerobi Anaerobi

Atât creșterea aerobă, cât și anaerobă; creștere mai mare în prezența oxigenului.

Numai creșterea anaerobă; încetează în prezența oxigenului.

Numai creșterea anaerobă; dar continuă în prezența oxigenului.

Doar creștere aerobă; oxigen necesar în concentrație scăzută.

Creșterea bacteriană în tub de mediu solid de creștere

Creșterea are loc numai acolo unde concentrații mari de oxigen au difuzat în mediu.

Prezența enzimelor catalază și superoxid dismutază (SOD) permite neutralizarea formelor toxice de oxigen; poate folosi oxigen.

Creșterea este cea mai bună acolo unde este prezent cel mai mult oxigen, dar are loc în tot tubul.

Prezența enzimelor catalaza și SOD permite neutralizarea formelor toxice de oxigen; poate folosi oxigen.

Creșterea are loc numai > acolo unde nu există

oxigen.

Lipsesc enzime pentru a neutraliza formele dăunătoare de oxigen; nu poate tolera oxigenul.

Creșterea are loc uniform; oxigenul nu are efect.

Prezența unei enzime, SOD, permite neutralizarea parțială a formelor dăunătoare de oxigen; tolerează oxigenul.

Creșterea are loc numai acolo unde o concentrație scăzută de oxigen a difuzat în mediu.

Produce cantități letale de forme toxice de oxigen dacă sunt expuse la oxigenul atmosferic normal.

Microbii care folosesc oxigen molecular (aerobi) extrag mai multă energie din nutrienți decât microbii care nu folosesc oxigen (anaerobi). Organismele care necesită oxigen pentru a trăi sunt numite aerobe obligate (Tabelul 6.1 a).

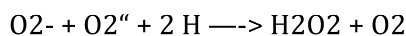
Aerobii obligatorii sunt dezavantajați deoarece oxigenul este slab solubil în apa din mediul lor. Prin urmare, multe dintre bacteriile aerobe au dezvoltat sau au păstrat capacitatea de a continua să crească în absența oxigenului. Astfel de organisme sunt numite anaerobe facultative (Tabelul 6.1b). Cu alte cuvinte, anaerobii facultativi pot folosi oxigenul atunci când este prezent, dar sunt capabili să continue creșterea utilizând fermentația sau respirația anaerobă atunci când oxigenul nu este disponibil. Cu toate acestea, eficiența lor în producerea de energie scade în absența oxigenului. Exemple de anaerobi facultativi sunt familiarele Escherichia coli care se găsesc în tractul intestinal uman. Multe drojdii sunt, de asemenea, anaerobe facultative. Amintiți-vă din discuția despre respirația anaerobă din capitolul 5 (pagina 130) că mulți microbi sunt capabili să înlocuiască oxigenul cu alți acceptori de electroni, cum ar fi ionii de nitrați, ceea ce oamenii nu pot face.

Anaerobii obligatorii (Tabelul 6.1c) sunt bacterii care nu pot folosi oxigenul molecular pentru reacții de producere a energiei. De fapt, majoritatea sunt afectați de ea. Genul Clostridium (klos-tri' de-um), care conține speciile care provoacă tetanos și botulism, este cel mai familiar exemplu. Aceste bacterii folosesc atomi de oxigen prezenți în materialele celulare; atomii se obţin de obicei din apă.

Înțelegerea modului în care organismele pot fi afectate de oxigen necesită o scurtă discuție despre formele toxice ale oxigenului:

Oxigenul singlet (*O_2') este oxigen molecular normal (O_2) care a fost propulsat într-o stare de energie mai mare și este extrem de reactiv.

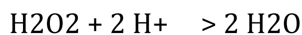
Radicalii superoxid (O_2T), sau anioni superoxid, se formează în cantități mici în timpul respirației normale a organismelor care folosesc oxigenul ca acceptor final de electroni, formând apă. În prezența oxigenului, anaerobii obligați par să formeze și niște radicali superoxid, care sunt atât de toxici pentru componentele celulare încât toate organismele care încearcă să crească în oxigenul atmosferic trebuie să producă o enzimă, superoxid dismutază (SOD), pentru a le neutraliza. Toxicitatea lor este cauzată de marea lor instabilitate, care îi determină să fure un electron dintr-o moleculă vecină, care la rândul său devine un radical și fură un electron și așa mai departe. Bacteriile aerobe, anaerobii facultativi care cresc aerob și anaerobii aerotoleranți (discutate pe scurt) produc SOD, cu care transformă radicalul superoxid în oxigen molecular (O_2) și peroxid de hidrogen (H_2O_2):


$O_2^- + O_2$“ + 2 H —-> $H_2O_2 + O_2$

Peroxidul de hidrogen produs în această reacție conține anionul peroxid O_2^{2-} și este, de asemenea, toxic. În Chaptei < (pag. 199) îl vom întâlni ca principiu activ în agenții antimicrobieni peroxid de hidrogen și peroxid de benzoil. Deoarece peroxidul de hidrogen produs în timpul respirației aerobe normale este toxic, microbii au dezvoltat enzime pentru a-l neutraliza. Cea mai familiară dintre acestea este catalaza, care o transformă în apă și oxigen:


2 H_2O_2 > 2 H_2O + O_2

Catalaza este ușor de detectat prin acțiunea sa asupra peroxidului de hidrogen. Când o picătură de peroxid de hidrogen este adăugată la o colonie de celule bacteriene producătoare de catalază, se eliberează bule de oxigen. Oricine a pus peroxid de hidrogen pe o rană va recunoaște că celulele din țesutul uman conțin și catalază. Cealaltă enzimă care descompune peroxidul de hidrogen este peroxidaza, care diferă de catalază prin faptul că reacția sa nu produce oxigen:


$H_2O_2 + 2 H^+$ > 2 H_2O

O altă formă importantă de oxigen reactiv, ozonul (O_3), este de asemenea discutată la pagina 199.

Radicalul hidroxil (OH-) este o altă formă intermediară de oxigen și probabil cea mai reactivă. Se formează în citoplasma celulară prin radiații ionizante. Majoritatea respirației aerobe produce urme de radicali hidroxil, dar aceștia sunt tranzitori.

Aceste forme toxice de oxigen sunt o componentă esențială a uneia dintre cele mai importante apărări ale organismului împotriva agenților patogeni, fagocitoza (vezi pagina

460 și Figura 16.7). În fagolizozomul celulei fagocitare, agenții patogeni ingerați sunt uciși prin expunerea la oxigen singlet, radicali superoxid, anioni peroxid de peroxid de hidrogen și radicali hidroxil și alți compuși oxidativi.

Anaerobii obligați nu produc de obicei nici superoxid dismutază, nici catalază. Deoarece condițiile aerobe duc probabil la o acumulare de radicali superoxid în citoplasma lor, anaerobii obligați sunt extrem de sensibili la oxigen.

Anaerobii aerotoleranți (Tabelul 6.1 d) nu pot folosi oxigenul pentru creștere, dar îl tolerează destul de bine. Pe suprafața unui mediu solid, ele vor crește fără utilizarea tehnicilor speciale (discutate mai târziu) necesare anaerobilor obligatorii. Multe dintre bacteriile aerotolerante fermentează în mod caracteristic carbohidrații în acid lactic. Pe măsură ce acidul lactic se acumulează, inhibă creșterea competitorilor aerobi și stabilește o nișă ecologică favorabilă pentru producătorii de acid lactic. Un exemplu comun de anaerobi aerotoleranți producatori de acid lactic este lactobacilii utilizați în producția multor alimente fermentate acide, cum ar fi murăturile și brânza. În laborator, ele sunt manipulate și cultivate la fel ca orice alte bacterii, dar nu folosesc oxigenul din aer. Aceste bacterii pot tolera oxigenul deoarece posedă SOD sau un sistem echivalent care neutralizează formele toxice de oxigen discutate anterior.

Câteva bacterii sunt microaerofile (Tabelul 6.1 e). Sunt aerobi - au nevoie de oxigen. Cu toate acestea, ele cresc doar în concentrații de oxigen mai mici decât cele din aer. Într-o eprubetă de mediu nutritiv solid, ele cresc doar la o adâncime în care s-au difuzat cantități mici de oxigen în mediu; nu cresc în apropierea suprafeței bogate în oxigen sau sub zona îngustă a oxigenului adecvat. Această toleranță limitată se datorează probabil sensibilității lor la radicalii superoxizi și peroxizii, vn.c.. produc în concentrații letale în condiții bogate în oxigen.

Factori organici de creștere

Compușii organici esențiali pe care un organism nu este capabil să sintetizeze sunt cunoscuți ca factori de creștere organici; acestea trebuie să fie obținute direct din mediu. Un grup de factori organici de creștere pentru oameni sunt vitaminele. Majoritatea vitaminelor funcționează ca coenzime, cofactorii organici necesari anumitor enzime pentru a funcționa. Multe bacterii își pot sintetiza toate propriile vitamine și nu depind de surse exterioare. Cu toate acestea, unor bacterii le lipsesc enzimele necesare pentru sinteza anumitor vitamine, iar pentru ele acele vitamine sunt factori organici de creștere. Alți factori de creștere organici necesari unor bacterii sunt aminoacizii, purinele și pirimidinele.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Dacă celulelor bacteriene li s-ar administra o sursă de sulf care conține sulf radioactiv (35S) în mediul lor de cultură, în ce molecule ar fi găsit 35S în celule? 6-4

Cum s-ar determina dacă un microb este un anaerob strict? 6-5

Oxigenul este atât de răspândit în mediul înconjurător încât ar fi foarte dificil pentru un microbi să evite întotdeauna contactul fizic cu el. Care este, prin urmare, cel mai evident mod prin care un microbi poate evita deteriorarea? 6-6

Biofilme

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

6-7 Descrieți formarea biofilmelor și potențialul lor de a provoca infecții.

În natură, microorganismele trăiesc rareori în coloniile izolate de o singură specie pe care le văd pe plăcile de laborator. Ei trăiesc de obicei în comunități numite biofilme. Acest fapt nu a fost bine apreciat până când dezvoltarea microscopiei confocale (vezi pagina 61) a făcut mai vizibilă structura tridimensională a biofilmelor. Biofilmele se află într-o matrice formată în principal din polizaharide, dar care conține și ADN și proteine, care este adesea numită în mod informal slime. . bio. De asemenea, m poate fi considerat un hidrogel, care este un polimer complex care conține de multe ori greutatea sa uscată în apă. Comunicarea chimică de la celulă la celulă, sau detectarea cvorumului, permite bacteriilor să coordoneze activitatea moștenitoare și să se grupeze în comunități care oferă beneficii nu spre deosebire de cele ale organismelor multicelulare (vezi caseta din Capitolul 3, pagina 56). Prin urmare, biofilmele nu sunt doar straturi bacteriene de var, ci sisteme biologice; bacteriile sunt organizate într-o comunitate coordonată, funcțională. Biofilmele sunt de obicei atașate de o suprafață, cum ar fi o rocă într-un iaz, un dinte uman (placă; vezi ■ figura 25.3 la pagina . 14) sau o membrană mucoasă. Această comunitate ar putea fi dintr-o singură specie sau dintr-un grup divers de microorganisme. Biofilmele pot lua și alte forme, mai variate. Flocul care se formează în anumite tipuri de epurare a apelor uzate (vezi Figura 27.19, pagina 791) este un exemplu. În fluxurile cu curgere rapidă, biofilmul poate fi sub formă de streamere filamentoase. În cadrul unei comunități de biofilm, bacteriile sunt capabile să împartă nutrienți și sunt protejate de factorii nocivi din mediu, cum ar fi desicarea, antibioticele și sistemul imunitar al organismului, apropierea7 de microorganisme în cadrul unui biofilm ar putea avea, de asemenea, avantajul de a facilita transferul de informații genetice, de exemplu, prin conjugare.

Un biofiim începe de obicei să se formeze atunci când o bacterie care înotă liber (planctonic) se atașează la o suprafață. Dacă aceste bacterii ar crește într-un monostrat uniform gros, ele ar deveni supraaglomerate, nutrienții nu ar fi disponibili la adâncimi mai mici și s-ar putea acumula deșeuri toxice. Microorganismele din comunitățile de biofilm evită uneori aceste probleme prin formarea unor structuri asemănătoare stâlpilor (Figura 6.5) cu canale între ele, prin care apa poate transporta nutrienții primiti și deșeurile care ies. „Acesta constituie un sistem circulator primitiv. Microbii individuali și aglomerările de slime părăsesc ocazional biofilmul stabilit și se mută într-o nouă locație în care biofilmul se extinde. Un astfel de biofilm este în general compus dintr-un strat de suprafață de aproximativ 10 pm grosime, cu stâlpi care se extind până la 200 pm deasupra acestuia.

Microorganismele din biofilme pot lucra în cooperare pentru a îndeplini sarcini complexe. De exemplu, sistemele digestive ale animalelor rumegătoare, cum ar fi bovinele, necesită multe7 specii microbiene diferite pentru a descompune celuloza. Microbii din sistemul digestiv al rumegătoarelor sunt localizați mai ales în comunitățile de biofilm. Biofilmele sunt, de asemenea, elemente esențiale în buna funcționare a sistemelor de tratare a apelor uzate, despre care vom discuta în (.capitolul 27. Ele pot fi, totuși, o problemă și la conducte și tuburi, unde acumulările lor împiedică circulația.

Biofilmele sunt un factor important în sănătatea umană. De exemplu, microbii din biofilme sunt probabil de 1000 de ori mai rezistenți la microbicide. Experții de la Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimează că 70% dintre infecțiile bacteriene umane implică biofilme. Majoritatea infecțiilor nosocomiale (infecțiile dobândite în unitățile de îngrijire medicală) sunt probabil legate de biofilmele de pe cateterele medicale (vezi Figura 1.8 la pagina 18 și Figura 21.3 la pagina 592). De fapt, biofilmele se formează pe aproape toate dispozitivele medicale existente, inclusiv pe valvele cardiace mecanice. Biofilmele, care pot include și cele formate de ciuperci precum Candida, sunt întâlnite în multe boli, cum ar fi infecții legate de utilizarea lentilelor de contact, carii dentare (vezi pagina 713) și infecții cu bacterii pseudomonade (vezi pagina 307).

O abordare pentru prevenirea formării biofilmului este de a încorpora antimicrobiene în suprafețele pe care se pot forma biofilme (vezi pagina 56). Deoarece semnalele chimice care permit cvorumul

Curenții V /ater se deplasează, după cum arată săgeata albastră, printre I 1

stâlpi de slime formați prin creșterea bacteriilor atașate la 10

suprafete solide. Acest lucru permite accesul eficient la nutrienți și eliminarea deșeurilor bacteriene. Bacteriile sau bacteriile individuale care formează slime din aglomerări de slime se desprind și se mută în noi locații. Vezi Figura 1.8.

Figura 6.5 Biofilme.

De ce este importantă prevenirea biofilmelor într-un mediu de îngrijire a sănătății?

detectarea sunt esențiale pentru formarea biofilmului, cercetările sunt în desfășurare pentru a determina componența acestor semnale chimice și, probabil, pentru a le bloca. O altă abordare implică descoperirea că lactoferina (vezi pagina 473), care este abundentă în multe secreții umane, poate inhiba formarea biofilmului. Lactoferina leagă fierul, în special printre pseudomonadele care sunt responsabile de biofilmele de fibroză chistică, cauza patologiei acestei boli ereditare, lipsa fierului inhibă motilitatea de suprafață esențială pentru agregarea bacteriilor în biofilme.

Majoritatea metodelor de laborator din microbiologie folosesc astăzi organisme care sunt cultivate în modul lor planctonic. Cu toate acestea, microbiologii prezic acum că se va concentra tot mai mult asupra modului în care microorganismele trăiesc de fapt în relație între ele și că acest lucru va fi luat în considerare în cercetarea industrială și medicală. •

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Identificați un mod în care agenții patogeni consideră că este avantajos să formeze biofilme. 6-7

Medii de cultură

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

6-8 Distingeți mediile definite chimic și mediile complexe.

6-9 Justificați utilizarea fiecăruia dintre următoarele: tehnici anaerobe, celule gazdă vii, borcane lumânări, medii selective și diferențiale, mediu de îmbogățire.

6-10 Diferențierea nivelurilor de biosecuritate 1,2,3 și 4.

Un material nutritiv pregătit pentru creșterea microorganismelor într-un laborator se numește mediu de cultură. Unele bacterii pot crește bine pe aproape orice mediu de cultură; altele necesită medii speciale, iar altele nu pot crește pe niciun mediu neviu încă dezvoltat. Microbii care sunt introduși într-un mediu de cultură pentru a iniția creșterea se numesc inocul. Microbii care cresc și se înmulțesc în sau pe un mediu de cultură sunt denumiți cultură.

Să presupunem că vrem să creștem o cultură a unui anumit microorganism, poate microbii dintr-un anumit specimen clinic. Ce criterii trebuie să îndeplinească mediul de cultură? În primul rând, trebuie să conțină nutrienții potriviți pentru microorganismul specific pe care dorim să-l creștem. De asemenea, ar trebui să conțină suficientă umiditate, un pH corect ajustat și un nivel adecvat de oxigen, poate deloc. Mediul trebuie să fie inițial steril – adică inițial nu trebuie să conțină microorganisme vii – astfel încât cultura să conțină doar microbii (și descendenții lor) pe care îi adăugăm în mediu. În cele din urmă, cultura în creștere trebuie incubată la temperatura adecvată.

O mare varietate de medii sunt disponibile pentru creșterea microorganismelor în laborator. Majoritatea acestor medii, care sunt disponibile din surse comerciale, au componente preamestecate și necesită doar adăugarea de apă și apoi sterilizarea. Media sunt în mod constant dezvoltate sau revizuite pentru a fi utilizate în izolarea și identificarea bacteriilor care sunt de interes pentru cercetătorii din domenii precum alimentele, apa și microbiologia clinică.

Când este de dorit să crească bacterii pe un mediu solid, se adaugă în mediu un agent de solidificare, cum ar fi agar. Polizaharidă complexă derivată dintr-o algă marine, agar-agar a fost folosită de mult timp ca agent de îngroșare în alimente precum jeleuri și înghețată.

Agar are unele proprietăți foarte importante care îl fac valoros pentru microbiologie și nu a fost găsit vreodată un înlocuitor satisfăcător. Puțini microbi pot degrada agar-ul, așa că rămâne solid. De asemenea, agarul se lichefiază la aproximativ 100°C (punctul de fierbere al apei) și la nivelul mării rămâne lichid până când temperatura scade la aproximativ 40°C. Pentru utilizare în laborator, agar-ul este ținut în băi de apă la aproximativ 50°C. La această temperatură, nu rănește majoritatea bacteriilor atunci când este turnat peste ele (după cum se arată în Figura 6.17a, pagina 173). Odată ce agarul s-a solidificat, acesta poate fi incubat la temperaturi care se apropie de 100°C înainte de a se lichefia din nou; această proprietate este deosebit de utilă atunci când se cultivă bacterii termofile.

Mediile de agar sunt de obicei conținute în eprubete sau vase Petri, eprubetele se numesc înclinate atunci când conținutul lor este lăsat să se solidifice cu tubul ținut în unghi, astfel încât să fie disponibilă o suprafață mare pentru creștere. Când agar-ul se solidifică într-un tub vertical, se numește adâncime. Vasele Petri, numite după inventatorul lor, sunt vase de mică adâncime, cu un capac care se cuibărește peste fund pentru a preveni contaminarea; când sunt umplute, se numesc plăci Petri (sau de cultură).

Medii definite chimic

Pentru a susține creșterea microbiană, un mediu trebuie să ofere o sursă de energie, precum și surse de carbon, azot, sulf,

TABEL £.2 Precum Escherichia coli

. Constituent	^mount
Glucoza	5-09
Fosfat de amoniu, monobazic (NH4H2PO4)	1,0 g
Clorura de sodiu (NaCI)	5,0 g
Sulfat de magneziu (MgS04. 7H2O)	0,2 g
Fospnat de potasiu, dibazic (K2HPO4)	1,0 g
Apa	1 litru

fosfor și orice factor organic de creștere pe care organismul nu este în măsură să-i sintetizeze. Un mediu definit chimic este unul a cărui compoziție chimică exactă este cunoscută. Pentru un chemoheterotrop, mediul definit chimic trebuie să conțină factori organici de creștere care servesc ca sursă de carbon și energie. De exemplu, așa cum se arată în Tabelul 6.2, glucoza este inclusă în mediul de creștere a chemoheterotropului E. coli.

După cum arată Tabelul 6.3, mulți factori organici de creștere trebuie furnizați în mediul definit chimic utilizat pentru cultivarea unei specii de Leuconostoc. Organismele care necesită mulți factori de creștere sunt descrise ca fiind exigente. Organismele de acest tip,

cum ar fi Lactobacillus (pagina 316), sunt uneori folosite în teste care determină concentrația unei anumite vitamine într-o substanță. Pentru a efectua un astfel de test microbiologic, se prepară un mediu de creștere care conține toate cerințele de creștere ale bacteriei, cu excepția vitaminei care se analizează. Apoi mediul, substanța de testat și bacteria sunt combinate și se măsoară creșterea bacteriilor. Această creștere bacteriană, care este reflectată de cantitatea de acid lactic produs, va fi proporțională cu cantitatea de vitamină din substanța de testat, cu cât mai mult acid lactic, cu atât celulele Lactobacillus au fost mai capabile să se dezvolte, cu atât mai multă vitamină este prezentă.

Media complexă

mediile sunt de obicei rezervate pentru lucrări experimentale de laborator sau pentru creșterea bacteriilor autotrofe. Majoritatea bacteriilor și ciupercilor heterotrofe, cum ați lucra într-un curs introductiv de laborator, sunt cultivate în mod obișnuit pe medii complexe alcătuite din nutrienți, inclusiv extracte din drojdii, carne sau plante, sau digeră proteine din acestea și din alte surse. Chimica exactă; compoziția variază ușor de la lot la lot. Tabelul 6.4 prezintă o rețetă utilizată pe scară largă.

În mediile complexe, energia, carbonul, azotul și energia microorganismelor în creștere sunt

furnizate în principal de proteine. Proteina este o moleculă mare, relativ insuficientă, pe care o pot face o minoritate de microorganisme

Mediu de cultură definit pentru

TABELUL 6. Leuconostoc mesenteroides

Carbon și energie

Glucoză, 25 g

Săruri

NH4CI, 3,0 g

K2HPO4*. 0,6 g

KH2PO4*, 0,6 g

MgS04, 0,1 g

Aminoacizi, 100 -200 pg fiecare

Alanină, arginină, asparagină, aspartat, cisteină, glutamat, glutamină, glicină, histidină, izoleucină, leucină, lizină, metionină, fenilalanină, prolină, serină, treonină, triptofan, tirozină, valină

Purine și pirimidine, câte 10 mg din fiecare

Adenină, guanină, uracil, xantină

Vitamine, 0,01-1 mg fiecare

Biotină, acid folic, acid nicotinic, piridoxal, piridoxamină, piridoxină, riboflavină, tiamină, pantotenat, acid p-aminobenzoic

Oligoelemente, 2 -10 pg fiecare

Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo

Tampon, pH 7

Acetat de sodiu, 25 g

Apă distilată, 1.000 ml

*Servește și ca tampon.

Utilizați direct, dar o digestie parțială de către acizi sau enzime reduce proteinele la lanțuri mai scurte de aminoacizi numite peptone. Aceste fragmente mici, solubile pot fi digerate de majoritatea bacteriilor.

Vitaminele și alți factori organici de creștere sunt furnizați de extractele de carne sau extractele de drojdie. Vitaminele și mineralele solubile din carne sau drojdii sunt dizolvate în apa de extracție, care este apoi evaporată astfel încât acești factori să fie concentrați. (Aceste extracte completează, de asemenea, compușii organici de azot și carbon.) Extractele de drojdie sunt deosebit de bogate în vitaminele B. Dacă un mediu complex este în formă lichidă, se numește bulion nutritiv. Când se adaugă agar, se numește agar nutritiv. (Această terminologie poate fi confuză; amintiți-vă doar că agarul în sine nu este un nutrient.)

Medii și metode de creștere anaerobe

Cultivarea bacteriilor anaerobe pune o problemă specială. Deoarece anaerobii pot fi uciși prin expunerea la oxigen, trebuie utilizate medii speciale numite medii reducătoare. Aceste mass-media

Compoziția agarului nutritiv, un mediu complex pentru creșterea TABELUL 3.4 al bacteriilor heterotrofe

conțin ingrediente, cum ar fi tioglicolatul de sodiu, care se combină chimic cu oxigenul dizolvat și epuizează oxigenul din mediul de cultură. Pentru a crește și a menține în mod obișnuit culturi pure de anaerobi obligatorii, microbiologii folosesc medii reducătoare stocate în eprubete obișnuite, bine închise. Aceste medii sunt încălzite cu puțin timp înainte de utilizare pentru a elimina oxigenul absorbit.

Când cultura trebuie cultivată în plăci Petri pentru a observa colonii individuale, sunt disponibile mai multe metode. Laboratoarele care lucrează cu relativ puține plăci de cultură la un moment dat pot utiliza sisteme care pot incuba microorganismele în cutii și borcane sigilate în care oxigenul este îndepărtat chimic după ce plăcile de cultură au fost introduse și recipientul sigilat. Unele sisteme necesită adăugarea apei într-un plic de substanțe chimice înainte ca recipientul să fie închis, așa cum se arată în Figura 6.6, și necesită un catalizator. Substanțele chimice produc hidrogen și dioxid de carbon (aproximativ 4—10%) și elimină oxigenul din recipient combinându-l, în prezența catalizatorului, cu hidrogenul pentru a forma apă. Într-un alt sistem disponibil comercial, învelișul de substanțe chimice (ingredientul activ este acidul ascorbic) este pur și simplu deschis pentru a-l expune la oxigen din atmosfera recipientului. Nu este nevoie de apă sau catalizator. Atmosfera din astfel de containere are de obicei mai puțin de 5% oxigen, aproximativ 18% CO_2 și nu există hidrogen. Într-un sistem recent introdus, fiecare placă Petri individuală (OxyPlate) devine o cameră anaerobă. Mediul din placă conține o enzimă, oxiraza, care combină oxigenul cu hidrogenul, eliminând oxigenul pe măsură ce se formează apa.

Laboratoarele care au un volum mare de lucru cu anaerobi folosesc adesea o cameră anaerobă, cum ar fi cea prezentată în Figura 6.7. Camera este umplută cu gaze inerte (de obicei aproximativ 85% N_2, 10% H_2 și 5% CO_2) și este echipată cu blocuri de aer pentru a introduce culturi și materiale.

Tehnici speciale de cultură

Multe bacterii nu au fost niciodată cultivate cu succes pe medii artificiale de laborator. Mycobacterium leprae, bacilul leprului, este acum cultivat de obicei în armadillos, care au o temperatură a corpului relativ scăzută, care corespunde cerințelor microbilor.

Plic care conține bicarbonat de sodiu și borohidrură de sodiu

Care este denumirea tehnică pentru bacteriile care necesită o concentrație de CO_2 mai mare decât cea atmosferică pentru creștere?

Un alt exemplu este spirochetul sifilis, deși anumite tulpini nepatogene ale acestui microbi au fost cultivate pe medii de laborator. Cu puține excepții, bacteriile intracelulare obligatorii, cum ar fi rickettsia și chlamydias, nu cresc pe medii artificiale. La fel ca virușii, ei se pot reproduce numai într-o celulă gazdă vie. Vezi discuția despre cultura celulară, pagina 379.

Multe laboratoare clinice au incubatoare speciale cu dioxid de carbon în care să crească bacterii aerobe care necesită concentrații de CO_2 mai mari sau mai mici decât cele găsite în atmosferă. Nivelurile dorite de CO_2 sunt menținute prin comenzi electronice. CO ridicat | nivelurile se obțin și cu borcane simple cu lumânări. Culturile sunt plasate într-un borcan mare sigilat care conține o lumânare aprinsă, care consumă oxigen. Lumânarea încetează să mai ardă atunci când aerul din borcan are o concentrație scăzută de oxigen (la aproximativ 17% O_2, încă adecvată pentru creșterea bacteriilor aerobe). De asemenea, este prezentă o concentrație crescută de CO_2 (aproximativ 3%). Microbii care cresc mai bine la concentrații

mari de CO_2 se numesc capnofili. Condițiile cu conținut scăzut de oxigen și cu conținut ridicat de CO_2 seamănă

În ce fel ar semăna o cameră anaerobă cu Laboratorul Spațial care orbitează în vidul spațiului?

cele găsite în tractul intestinal, tractul respirator și alte țesuturi ale corpului unde cresc bacteriile patogene.

Borcanele cu lumânări sunt încă folosite ocazional, dar mai des se folosesc pachete chimice disponibile în comerț pentru a genera atmosfere de dioxid de carbon în containere. Atunci când doar una sau două plăci Petri de culturi trebuie să fie incubate, investigatorii de laborator clinic folosesc adesea pungi mici de plastic cu generatoare de gaz chimice autonome care sunt activate prin zdrobirea pachetului sau umezirea acestuia cu câțiva mililitri de apă. Aceste pachete sunt uneori special concepute pentru a furniza concentrații precise de dioxid de carbon (de obicei mai mari decât pot fi obținute în borcane cu lumânări) și oxigen pentru cultivarea organismelor precum bacteriile micro-aerofile „ampylobacter” (pagina 313).

Unele microorganisme sunt atât de periculoase încât pot fi manipulate numai în sisteme extraordinare de izolare numite nivel de biosecuritate 4 (BSL-4). Laboratoarele de nivel 4 sunt cunoscute în mod popular ca zona fierbinte.” Doar o mână de astfel de laboratoare există în Statele Unite ale Americii. Laboratorul este un mediu etanș într-o clădire mai mare și are o atmosferă sub presiune negativă, astfel încât agenții patogeni nu vor scăpa. Atât aerul de admisie cât și ^x^ausf sunt filtrate prin filtre de aer cu particule de înaltă eficiență (vezi filtre HEPA, pagina 188); aerul evacuat este filtrat. de două ori. Materialele reziduale care părăsesc laboratorul devin neinfecțioase. Personalul poartă „costume spațiale” care sunt conectate la o sursă de aer (Figura 6.8).

Figura 6.8 Tehnicieni într-un laborator de biosecuritate nivel 4 (BSL-4).

Personalul care lucrează într-o instalație BSL-4 poartă un „costum spațial” care este conectat la o sursă de aer exterior.

a Dacă un tehnician ar lucra cu prioni patogeni, cum ar fi devenit neinfectios materialul care părăsește laboratorul? (Sugestie: vezi capitolul 7.)

Organismele mai puțin periculoase sunt manipulate la niveluri mai scăzute de biosecuritate. De exemplu, un laborator de predare de microbiologie de bază ar fi BSL-1. Organismele care prezintă un risc moderat de infecție pot fi manipulate la niveluri BSL-2, adică pe bancuri de laborator deschise, cu mănuși adecvate, halate de laborator sau, eventual, protecție pentru față și pentru ochi. Laboratoarele BSL-3 sunt destinate agenților patogeni aeropurtați foarte infecțioși, cum ar fi agentul de tuberculoză. Se folosesc dulapuri de siguranță biologică asemănătoare ca aspect cu camera anaerobă prezentată în Figura 6.7, laboratorul însuși

trebuie să fie presurizat negativ și echipat cu filtre de aer pentru a preveni eliberarea agentului patogen din laborator.

Medii selective și diferențiale

În microbiologia clinică și de sănătate publică, este frecvent necesară detectarea prezenței unor microorganisme specifice asociate cu boli sau cu o salubritate deficitară. Pentru această sarcină se folosesc medii selective și diferențiale. Mediile selective sunt concepute pentru a suprima creșterea bacteriilor nedorite și a încuraja creșterea microbilor doriti. De exemplu, agarul cu sulfit de bismut este un mediu folosit pentru a izola bacteria tifoidă, Salmonella typhi gram-negativă (ti'fe), din fecale. Sulfitul de bismut inhibă bacteriile gram-pozitive și majoritatea bacteriilor intestinale gram-negative (altele decât S. typhi), de asemenea. Geloza dextroză Sabouraud, care are un pH de 5,6, este folosită pentru a izola ciupercile care depășesc majoritatea bacteriilor la acest pH.

Mediile diferențiale facilitează distingerea coloniilor organismului dorit de alte colonii care cresc pe aceeași placă. În mod similar, culturile pure de microorganisme au

colonii bacteriene A

Hemoliza

2 mm

Figura 6.9 Agar cu sânge, un mediu diferențial care conține globule roșii. Bacteriile au lizat globulele roșii (beta-hemoliză), provocând zonele clare din jurul coloniilor.

.

Ce valoare au hemolizinele pentru agenții patogeni?

reacții identificabile cu medii diferențiale în tuburi sau plăci. Geloza pe sânge (care conține globule roșii) este un mediu pe care microbiologii îl folosesc adesea pentru a identifica speciile bacteriene care distrug globulele roșii. Aceste specii, cum ar fi Streptococcus pyogenes (pi-aj'en-ez), bacteria care provoacă faringitia streptococică, prezintă un inel clar în jurul coloniilor lor (beta-hemoliză, pagina 317) unde au lizat celulele sanguine din jur (Figura 6.9).

Uneori, caracteristicile selective și diferențiale sunt combinate într-un singur mediu. Să presupunem că vrem să izolăm bacteria comună Staphylococcus aureus, găsită în căile nazale, organismul său are o toleranță la concentrații mari de clorură de sodiu; de asemenea, poate fermenta manitolul carbohidrat pentru a forma acid. Agar cu sare manitol conține 7,5% clorură de sodiu, ceea ce va descuraja creșterea organismelor concurente și, astfel, va selecta (favorizează creșterea) S. aureus. Acest mediu sărat conține și un indicator de pH care își schimbă culoarea dacă manitolul din mediu este fermentat până la acid; coloniile de S. aureus care fermentează manitol sunt astfel diferențiate de coloniile de bacterii care nu fermentează manitolul. Bacteriile care cresc la concentrație mare de sare și

fermentează manitolul în acid pot fi identificate cu ușurință prin schimbarea culorii (Figura 6.10). Acestea sunt probabil colonii de S. aureus, iar identificarea lor poate fi confirmată prin teste suplimentare. Utilizarea mediilor diferențiale pentru a identifica E. coli producătoare de toxine este discutată în Capitolul 5, pagina 136.

Cultura de îmbogățire

Deoarece bacteriile prezente în număr mic pot fi omise, mai ales dacă alte bacterii sunt prezente în număr mult mai mare, uneori este necesar să se folosească o cultură de îmbogățire.

Sunt bacteriile capabile să crească la o presiune osmotică ridicată probabil să fie capabile să crească în mucusul găsit în nări?

Acesta este adesea cazul probelor de sol sau fecale. Mediul (mediul de îmbogățire) pentru o cultură de îmbogățire este de obicei lichid și oferă nutrienți și condiții de mediu care favorizează creșterea unui anumit microbi, dar nu și altora. În acest sens, este și un mediu selectiv, dar este conceput pentru a crește un număr foarte mic de tipul dorit de organism până la niveluri detectabile.

Să presupunem că vrem să izolăm dintr-o probă de sol un microb care poate crește pe fenol și este prezent în număr mult mai mic decât alte specii. Dacă proba de sol este plasată într-un mediu lichid de îmbogățire în care fenolul este singura sursă de carbon și energie, microbii incapabili să metabolizeze fenolul nu vor crește. Mediul de cultură este lăsat să incubeze câteva zile, apoi o cantitate mică din acesta este transferată într-un alt balon din același mediu; După o serie de astfel de transferuri, populația supraviețuitoare va consta din bacterii capabile să metabolizeze fenolul. Bacteriile au timp să crească în mediu între transferuri; aceasta este etapa de îmbogățire. (Vezi caseta din capitolul 28, pagina 808.) Orice nutrienți din inoculul original sunt diluați rapid cu transferurile succesive. Când ultima diluție este striată pe un mediu solid de aceeași compoziție, ar trebui să crească numai acele colonii de organisme capabile să utilizeze fenol. Un aspect remarcabil al acestei tehnici particulare este că fenolul este în mod normal letal pentru majoritatea bacteriilor.

Tabelul 6.5 rezumă scopurile principalelor tipuri de medii de cultură.

Caz clinic

P. fluorescens este o baghetă aerobă, gram-negativă, care crește cel mai bine între 25°C și 30cC și crește slab la temperaturile standard de incubare a microbiologiei spitalicești (35°C până la 37°C). Bacteriile sunt numite astfel deoarece produc un pigment care are fluorescență sub lumina ultravioletă. În timp ce analizează faptele celui mai recent focar, dr. MacGruder află că cei mai recenti pacienți au fost expuși ultima dată la heparină contaminată cu 84 până la 421 de zile înainte de debutul infecțiilor. Investigațiile la fața locului au confirmat că clinicile pacienților nu mai folosesc heparina rechemată și au avut. de fapt, a returnat tot inventarul nefolosit. Concluzionând că acești pacienți nu au dezvoltat infecții în timpul focarului precedent, dr. MacGruder trebuie să caute o nouă sursă de infecție. Toți pacienții au

catetere venoase reziduale: tuburi care sunt introduse într-o venă pentru livrarea pe termen lung a soluțiilor concentrate, cum ar fi medicamentele anticanceroase. Dr. MacGruder comandă culturi ale noii heparine utilizate, dar rezultatele nu recuperează niciun organisme. Apoi comandă culturi de sânge și cateter de la fiecare dintre pacienți.

Organismul cultivat atât din sângele pacientului, cât și din cateterele lor este prezentat în figură. Ce organism este?

166

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

..ar putea oamenii să existe pe medii definite chimic, cel puțin în condiții de laborator? 6-8

,

O' Ar fi putut Louis Pasteur, în anii 1800, să crească viruși ai rabiei în cultură celulară în loc de animale vii? 6-9

Ce BSL este laboratorul tău? 6-10

Obținerea culturilor pure

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

6-11 Definiți colonia.

6-12 Descrieți modul în care culturile pure pot fi izolate utilizând metoda plăcilor cu dungi.

Majoritatea materialelor infecțioase, cum ar fi puroiul, sputa și urina, conțin mai multe tipuri diferite de bacterii; la fel și mostrele de sol, apă sau alimente. Dacă aceste materiale sunt placate pe suprafața unui mediu solid, se vor forma colonii care sunt copii exacte ale organismului original. O colonie vizibilă apare teoretic dintr-un singur spor sau celulă vegetativă sau dintr-un grup de aceleași microorganisme atașate între ele în aglomerări sau lanțuri. Estimările sunt că doar aproximativ 1% dintre bacteriile din ecosisteme produc colonii prin metode convenționale de cultură. Coloniile microbiene au adesea a

TABELUL 6.5 Medii de cultură

aspect distinctiv care distinge un microb de altul (vezi Figura 6.10). Bacteriile trebuie să fie distribuite suficient de larg, astfel încât coloniile să fie vizibil separate unele de altele.

Majoritatea lucrărilor bacteriologice necesită culturi pure sau clone de bacterii. Metoda de izolare cel mai frecvent utilizată pentru a obține culturi pure este metoda plăcii cu striații (Figura 6.11). O ansă sterilă de inoculare este scufundată într-o cultură mixtă care conține mai mult de un tip de microbi și este întinsă într-un model pe suprafața mediului nutritiv.

Pe măsură ce modelul este urmărit, bacteriile sunt frecate de pe buclă pe mediu. Ultimele celule care trebuie scoase din buclă sunt suficient de îndepărtate pentru a crește în colonii izolate. Aceste colonii pot fi preluate cu o ansă de inoculare și transferate într-o eprubetă cu mediu nutritiv pentru a forma o cultură pură care conține un singur tip de bacterie.

Metoda cu plăci cu dungi funcționează bine atunci când organismul care urmează să fie izolat este prezent în număr mare în raport cu populația totală. Cu toate acestea, atunci când microbul care urmează să fie izolat este prezent doar în număr foarte mic, numărul acestuia trebuie să fie mult crescut prin îmbogățire selectivă înainte de a putea fi izolat prin metoda plăcii striate.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Vă puteți gândi la vreun motiv pentru care o colonie nu crește la o dimensiune infinită sau cel puțin umple limitele plăcii Petri? 6-11 Ar putea fi obținută o cultură pură de bacterii prin metoda plăcii cu dungi dacă ar exista un singur microb dorit într-o suspensie bacteriană de miliarde? 6-12

Conservarea culturilor bacteriene

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

6-13 Explicați modul în care microorganismele sunt conservate prin congelare și liofilizare (liofilizare).

Refrigerarea poate fi folosită pentru depozitarea pe termen scurt a culturilor bacteriene. Două metode comune de conservare a culturilor microbiene

În ce fel este înmugurirea diferită de fisiunea binară?

pe perioade lungi sunt congelarea și liofilizarea. Congelarea este un proces în care o cultură pură de microbi este plasată într-un lichid în suspensie și congelată rapid la temperaturi cuprinse între -50°C și -95°C. Cultura poate fi de obicei dezghețată și cultivată chiar și câțiva ani mai târziu. În timpul liofilizării (uscarea prin congelare), o suspensie de microbi este înghețată rapid la temperaturi cuprinse între -54°C și -72°C, iar apa este îndepărtată printr-un vid înalt (sublimare). În timp ce se află sub vid, recipientul este sigilat prin topirea sticlei cu o torță la temperatură înaltă, (reziduul sub formă de pulbere care conține microbii supraviețuitori poate fi păstrat ani de zile, organismele pot fi reînviate în orice moment prin hidratare cu un mediu nutritiv lichid adecvat.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

/X |dacă Stația Spațială de pe orbita Pământului s-ar rupe brusc, oamenii de la bord ar muri instantaneu din cauza vidului spațiului. Ar fi ucise și toate bacteriile din capsulă? 6-13

Creșterea culturilor bacteriene

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

6-14 Definiți creșterea bacteriană, inclusiv fisiunea binară.

6-15 Comparați fazele creșterii microbiene și descrieți relația lor cu timpul de generare.

6-16 Explicați patru metode directe de măsurare a creșterii celulare.

6-17 Diferențierea metodelor directe și indirecte de măsurare a creșterii celulare.

.

6-18 Explicați trei metode indirecte de măsurare a creșterii celulare.

Capacitatea de a reprezenta grafic populațiile enorme rezultate din creșterea culturilor bacteriene este o parte esențială a microbiologiei. De asemenea, este necesar să se poată determina numerele microbiene, fie direct, prin numărare, fie indirect, prin măsurarea activității lor metabolice.

Diviziune bacteriană

După cum am menționat la începutul capitolului, creșterea bacteriană se referă la o creștere a numărului de bacterii, nu la o creștere a dimensiunii celulelor individuale. Bacteriile se reproduc în mod normal prin fisiune binară (Figura 6.12).

Câteva specii bacteriene se reproduc prin înmugurire; ele formează o excrescere inițială mică (un mugure) care se mărește până când dimensiunea sa se apropie de cea a celulei părinte și apoi se separă. Unele bacterii ..amentoase (anumite actinomicete) se reproduc prin producerea de lanțuri de conidiospori purtate extern la vârfurile filamentelor. Câteva specii filamentoase se fragmentează pur și simplu, iar fragmentele inițiază creșterea de noi celule, (mm)' Animații Fisiune binară; Creșterea bacteriană: prezentare generală

Timpul generației

În scopul calculării timpului de generare a bacteriilor, vom lua în considerare numai reproducerea prin fisiune binară, care este de departe cea mai comună metodă. După cum puteți vedea în Figura 6.13, diviziunea unei celule produce două celule, diviziunile a două celule produc patru ce Is și așa mai departe. Când numărul de celule din fiecare generație este ;Prese< ca putere de 2, exponentul spune numărul de duble (generații) care au avut loc.

Timpul necesar pentru ca o celulă să se dividă (și populația sa pentru a se ajunge la ou e) se numește timp de generare. Acesta variază în funcție de '.ganisme și cu condițiile de mediu, c ca temperatura. Bacteriile pierdute au un timp de generare /° ?urs' °^lers necesită mai mult de 24 de ore pe gen. Matematica necesară pentru a calcula timpii de generație este

(a) Reprezentare vizuală a creșterii numărului de bacterii pe parcursul a cinci generații. Numărul de bacterii se dublează în fiecare generație. Superscriptul indică generația; adică 25 = 5 generații.

Numărul generației

Numărul de celule

Log10 din

Numărul de celule

(b) Conversia numărului de celule dintr-o populație în expresia logaritmică a acestui număr. Pentru a ajunge la numerele din coloana centrală, utilizați tasta yx de pe calculator. Introduceți 2 pe calculator; apăsați yx; introduceți 5; apoi apăsați semnul =. Calculatorul va arăta numărul 32. Astfel, populația de bacterii din generația a cincea va totaliza 32 de celule. Pentru a ajunge la numerele din coloana din dreapta, utilizați tasta jurnal de pe calculator. Introduceți numărul 32; apoi apăsați tasta jurnal. Calculatorul va arăta, rotunjit, că log10 din 32 este 1,51.

Figura 6.14 O curbă de creștere pentru o populație în creștere exponențială, reprezentată grafic logaritmic (linie întreruptă) și aritmetic (linie continuă). În scopuri demonstrative, acest grafic a fost desenat astfel încât curbele aritmetice și logaritmice să se intersecteze la 1 milion de celule. Această figură demonstrează de ce este necesară reprezentarea grafică a modificărilor numărului imens de populații bacteriene prin diagrame logaritmice, mai degrabă decât prin numere aritmetice. De exemplu, rețineți că la zece generații linia care reprezintă numerele aritmetice nici măcar nu a părăsit în mod perceptibil linia de bază, în timp ce punctul logaritmic al graficului pentru a zecea generație (3.01) se află la jumătatea graficului.

Numărul de celule

Dacă aritmetica

numerele (linie continuă) au fost trasate pentru încă două

generații, ar mai fi linia pe pagină?

Figura 6.13 Diviziunea celulară.

la fiecare 30 de minute, câte prezentate în Anexa B.) Dacă fisiunea binară continuă necontrolată, se va produce un număr enorm de celule. Dacă ar avea loc o dublare la fiecare 20 de minute – ceea ce este cazul pentru E. coli în condiții favorabile – după 20 de generații, o singură celulă inițială ar crește la peste 1 milion de celule. Acest lucru ar necesita puțin mai puțin de 7 ore. În 30 de generații, sau 10 ore, populația ar fi de 1 miliard, iar în 24 de ore ar fi un număr urmat de 21 de zerouri. Este dificil de a reprezenta grafic schimbările populației de o asemenea magnitudine, folosind numere aritmetice. Acesta este motivul pentru care scalele logaritmice sunt utilizate în general pentru a reprezenta grafic creșterea bacteriilor. Înțelegerea reprezentărilor logaritmice ale populațiilor bacteriene necesită o anumită utilizare a matematicii și este necesară pentru oricine studiază microbiologia. (Vezi Anexa B.)

Reprezentarea logaritmică a populațiilor bacteriene

Pentru a ilustra diferența dintre reprezentarea grafică logaritmică și aritmetică a populațiilor bacteriene, să exprimăm 20 de generații bacteriene atât logaritmic, cât și aritmetic. În cinci generații (25), ar fi 32 de celule; în zece generații (210), ar fi 1024 de celule și așa mai departe. (Dacă calculatorul dumneavoastră are o cheie și o cheie de jurnal, puteți duplica numerele din a treia coloană din Figura 6.13.)

În Figura 6.i4, observați că linia trasată aritmetic (solid) nu arată clar schimbările populației în stadiile incipiente ale curbei de creștere la această scară. De fapt, primele zece generații nici măcar nu par să părăsească linia de bază. În plus, încă una sau două generații aritmetice reprezentate grafic la aceeași scară ar crește foarte mult înălțimea graficului și ar elimina linia de pe pagină.

Linia întreruptă din Figura 6.14 arată cum aceste probleme de reprezentare grafică pot fi evitate prin reprezentarea grafică a log10 al numerelor populației. Log1() al populației este reprezentat grafic la 5, 10, 15 și 20 de generații. Observați că se formează o linie dreaptă și că a

Înțelegerea curbei de creștere a bacteriilor

o

CONCEPTE-CHEIE

Faza staționară Perioada de echilibru; decesele microbiene echilibrează producția de noi celule.

£0 Faza de întârziere Activitate intensă de pregătire pentru creșterea populației, dar fără creștere a populației.

Faza de jurnal

Creștere logaritmică, sau exponențială, a populației.

Creșterea logaritmică în faza logaritmică se datorează reproducerii prin fisiune binară (bacterii) sau mitoză (drojdie).

5

Timp (h)

Populațiile bacteriene urmează o serie secvențială de faze de creștere: fazele de întârziere, log, staționar și de moarte.

Cunoașterea curbei de creștere bacteriană este esențială pentru înțelegerea dinamicii populației și controlul populației în cursul bolilor infecțioase, în conservarea și deteriorarea alimentelor, precum și în procesele de microbiologie industrială, cum ar fi producția de etanol.

Faza Morții

Populația scade cu o rată logaritmică.

Staphylococcus spp.

de mii de ori această populație (1.000.000.000, sau log10 9,0) ar putea fi găzduită într-un spațiu suplimentar relativ mic. Cu toate acestea, acest avantaj este obținut cu prețul distorsionării percepției noastre de „bun simț” asupra situației reale. Nu suntem obișnuiți să gândim în relații logaritmice, dar este necesar pentru o înțelegere adecvată a graficelor populațiilor microbiene.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Poate un organism complex, cum ar fi un gândac, să se divizeze prin fisiune binară? 6-14

Fazele de creștere

Când câteva bacterii sunt inoculate într-un mediu de creștere lichid și populația este numărată la intervale, este posibil să se traseze o curbă de creștere bacteriană care arată creșterea celulelor în timp (Figura 6.15). Există patru faze de bază ale creșterii: fazele de lag, log, staționar și moarte. Curba de creștere a bacteriilor de animație

Faza de întârziere

Pentru o vreme, numărul de celule se modifică foarte puțin, deoarece celulele nu se reproduc imediat într-un mediu nou. Această perioadă de diviziune celulară mică sau deloc se numește fază de întârziere și poate dura 1 oră sau câteva zile. În acest timp însă, celulele sunt nd: latente. Populația microbiană trece printr-o perioadă de activitate metabolică intensă care implică, în special, sinteza de enzime și diferite molecule. (Situația este similară cu o fabrică echipată pentru a produce automobile; există o activitate considerabilă de utilaje, dar nu o creștere imediată a populației de automobile.)

Faza Jurnalului

În cele din urmă, celulele încep să se dividă și să intre într-o perioadă de creștere,

' 1 ' ■ ' :ease> numit fază log, sau exponențial

faza de crestere. Reproducerea celulară este cea mai activă în această perioadă, iar timpul de generare atinge un minim constant. Deoarece timpul de generare este constant, o diagramă logaritmică a creșterii în timpul fazei de log este o linie dreaptă. Faza logaritmică este I ⍰ .e ⍰ când celulele sunt cele mai active metabolic și este preferată

. ' '' ' '' rP°ses'wlferg, de exemplu, un produs ri&yis să fie

produs eficient.

Faza staționară

creșterea xponențială a continuat necontrolat, ar putea apărea un număr uimitor de mare de celule. De exemplu, o singură bacterie

(la o greutate de 9,5 x 10 13 g per celulă) împărțirea la fiecare 20 de minute timp de numai 25,5 ore poate produce teoretic o populație echivalentă în greutate cu cea a unui portavion de 80.000 de tone. În realitate, acest lucru nu se întâmplă. În cele din urmă, rata de creștere încetinește, numărul deceselor microbiene echilibrează numărul de celule noi, iar populația se stabilizează. Această perioadă de echilibru se numește faza staționară.

Pălăria provoacă oprirea creșterii exponențiale nu este întotdeauna clar, epuizarea nutrienților, acumularea de deșeuri și modificările dăunătoare ale pH-ului pot juca un rol.

Faza Morții

Numărul deceselor depășește în cele din urmă numărul de celule noi formate, iar populația intră în faza morții sau faza de declin logaritmic. Această fază continuă până când populația este diminuată la o mică parte din numărul de celule din faza anterioară sau până când populația se stinge complet. Unele specii trec prin întreaga serie de faze în doar câteva zile; altele păstrează unele celule supraviețuitoare aproape la nesfârșit. Moartea microbiană va fi discutată în continuare în capitolul 7.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Dacă doi șoareci au întemeiat o familie într-o incintă fixă, cu o aprovizionare fixă cu hrană, curba populației ar fi aceeași cu curba de creștere bacteriană? 6-15

Măsurarea directă a creșterii microbiene

Creșterea populațiilor microbiene poate fi măsurată într-un număr de moduri. Unele metode măsoară numărul de celule; alte metode măsoară masa totală a populației, care este adesea direct proporțională cu numărul de celule. Numerele populației sunt de obicei înregistrate ca număr de celule într-un mililitru de lichid sau într-un gram de material solid. Deoarece populațiile bacteriene sunt de obicei foarte mari, cele mai multe metode de numărare a acestora se bazează pe numărarea directă sau indirectă a probelor foarte mici; calculele determină apoi mărimea populației totale. Să presupunem, de exemplu, că o milioneme dintr-un mililitru (106 ml) de lapte acru conține 70 de celule bacteriene. Atunci trebuie să fie de 70 de ori 1 milion sau 70 de milioane de celule pe mililitru.

Cu toate acestea, nu este practic să se măsoare o milioneme de mililitru de lichid sau o milionime de gram de hrană, „de aceea, procedura se face indirect, într-o serie de diluții. De exemplu, dacă adăugăm 1 ml de lapte la 99 ml de apă, fiecare mililitru din această diluție are acum o sutime din câte bacterii a avut fiecare mililitru din proba originală. Făcând o serie de astfel de diluții, putem estima cu ușurință numărul de bacterii din proba noastră originală. Pentru a număra populațiile microbiene din alimentele solide (cum ar fi hamburger), un omogenat dintr-o parte de hrană la nouă părți de apă este măcinat fin într-un blender de

alimente. Probele din această diluție inițială de o zecime pot fi apoi transferate cu o pipetă pentru diluții ulterioare sau numărătoare de celule.

Numărări de plăci

Metoda cea mai des folosită de măsurare a populației bacteriene este numărul de plăci. Un avantaj important al acestei metode este că măsoară numărul de celule viabile. Un dezavantaj poate fi acela că durează ceva timp, de obicei 24 de ore sau mai mult, pentru a se forma coloniile vizibile. Aceasta poate fi o problemă serioasă în unele aplicații, cum ar fi controlul calității laptelui, când nu este posibil să păstrați un anumit lot pentru această perioadă de timp.

Numărările plăcilor presupun că fiecare bacterie vie crește și se divide pentru a produce o singură colonie. Acest lucru nu este întotdeauna adevărat, deoarece bacteriile cresc frecvent legate în lanțuri sau sub formă de aglomerări (vezi Figura 4.1, pagina 77). Prin urmare, o colonie rezultă adesea, nu dintr-o singură bacterie, ci din segmente scurte ale unui lanț sau dintr-un aglomerar bacterian. Pentru a reflecta această realitate, numărul de plăci este adesea raportat ca unități formatoare de colonii (CFU).

Când se efectuează o numărare pe placă, este important ca în placă să se dezvolte doar un număr limitat de colonii. Când sunt prezente prea multe colonii, unele celule sunt supraaglomerate și nu se dezvoltă; aceste condiții provoacă inexactități în numărare. Convenția US Food and Drug Administration este de a număra doar plăcile cu 25 până la 250 de colonii, dar mulți microbiologi preferă plăcile cu 30 până la 300 de colonii. Pentru a se asigura că unele colonii vor fi în acest interval, inoculul original este diluat de mai multe ori într-un proces numit diluție în serie (Figura 6.16).

Diluții în serie Să presupunem, de exemplu, că o probă de lapte are 10.000 de bacterii pe mililitru. Dacă 1 ml din această probă ar fi pus pe placă, teoretic ar fi 10.000 de colonii formate în placa Petri a mediului. Evident, acest lucru nu ar produce o placă numărabilă. Dacă 1 ml din această probă ar fi transferat într-un tub care conține 9 ml de apă sterilă, fiecare mililitru de lichid din acest tub ar conține acum 1000 de bacterii. Dacă 1 ml din această probă ar fi inoculat într-o placă Petri, ar exista încă prea multe colonii potențiale pentru a fi numărate pe o placă. Prin urmare, s-ar putea face o altă diluție în serie. Un mililitru care conține 1000 de bacterii ar fi transferat într-un al doilea tub de 9 ml de apă. Fiecare mililitru din acest tub ar conține acum doar 100 de bacterii, iar dacă 1 ml din conținutul acestui tub ar fi acoperit, s-ar forma potențial 1,00 colonii - un număr ușor de numărat.

Plăci de turnare și plăci de împrăștiat Numărarea plăcilor se face fie prin metoda plăcii de turnare, fie prin metoda plăcii de împrăștiere. Metoda plăcii de turnare urmează procedura prezentată în Figura 6.17a. Se introduc 1,0 ml sau 0,1 ml de diluții ale suspensiei bacteriene într-o cutie Petri. Mediul nutritiv, în care agarul este menținut lichid prin ținerea acestuia într-o baie de apă la aproximativ 50°C, este turnat peste probă, care este apoi amestecată în mediu prin agitarea ușoară a plăcii.

Când agarul se solidifică, placa este incubată. Cu tehnica plăcii de turnare, coloniile vor crește în interiorul agarului nutritiv (din celulele suspendate în mediul nutritiv pe măsură ce agarul se solidifică), precum și pe suprafața plăcii de agar.

1:10

(10-1)

1:100

(10-2)

1:100.000

(10-5)

Calcul: Numărul de colonii pe placă x inversul diluției probei = numărul de bacterii/ml (De exemplu, dacă 54 de colonii sunt pe o placă cu o diluție de 1:1000, atunci numărul de 54 x 1000 = 54.000 de bacterii/ml în probă.)

Figura 6.1 Diluții în serie și numărătoare pe plăci. În diluțiile în serie, inoculul original este diluat într-o serie de tuburi de diluție. În exemplul nostru, fiecare tub de diluție următor va avea doar o zecime din numărul de celule microbiene ca tubul precedent. Apoi, probele de diluție sunt folosite pentru a inocula plăci Petri, pe care cresc colonii și pot fi numărate. Acest număr este apoi utilizat pentru a estima numărul de bacterii din proba originală.

KJ De ce nu au fost luate în calcul diluțiile de 1:10.000 și 1:100.000? Teoretic, câte colonii ar trebui să apară pe placa de 1 100?

Această tehnică are unele dezavantaje, deoarece unele microorganisme relativ sensibile la căldură pot fi deteriorate de agarul topit și, prin urmare, nu vor putea forma colonii. De asemenea, atunci când se folosesc anumite medii diferențiale, aspectul distinctiv al coloniei la suprafață este esențial în scopuri de diagnostic. Coloniile care se formează sub suprafața unei plăci de turnare nu sunt satisfăcătoare pentru astfel de teste. Pentru a evita aceste probleme, se folosește frecvent metoda plăcii de împrăștiere (Figura 6.17b). Se adaugă un inocul de 0,1 ml pe suprafața unui mediu de agar solidificat, turnat în prealabil. Inoculul este apoi împrăștiat uniform pe suprafața mediului cu o tijă de sticlă sau metal sterilizată, de formă specială. Această metodă poziționează toate coloniile la suprafață și evită contactul dintre celule și agar topit.

Filtrare

Când cantitatea de bacterii este foarte mică, ca în lacuri sau cursuri relativ pure, bacteriile pot fi numărate prin metode de filtrare (Figura 6.18). În această tehnică, se trec cel puțin 100 ml de apă printr-un filtru cu membrană subțire ai cărui pori sunt prea mici pentru a permite trecerea bacteriilor. Astfel, bacteriile sunt filtrate și reținute pe suprafața filtrului. Acest filtru este apoi transferat într-o cutie Petri care conține un tampon înmuiat în mediu nutritiv lichid, unde apar colonii din bacteriile de pe suprafața filtrului. Această metodă se aplică frecvent la detectarea și enumerarea c. bacterii coliforme, care sunt indicatori ai contaminării cu fecale a alimentelor sau apei (vezi capitolul 27). Coloniile formate de aceste bacterii sunt distincte atunci când se utilizează un mediu nutritiv diferențial. (Coloniile prezentate în Figura 6.18b sunt exemple de coliformi.)

Metoda M > primul număr probabil (MPN).

O altă metodă pentru determinarea numărului de bacterii din aa 1:\C.ls metoda numărului cel mai probabil (MPN), ilustrată în Figura 6.1. Această tehnică de estimare statistică se

bazează pe faptul că, cu cât este mai mare numărul de bacterii la maimuță, este nevoie de mai multă diluție pentru a reduce densitatea până la „nicio bacterie nu este lăsată să crească în tuburi într-o serie de diluții. Metoda MPN este cea mai utilă atunci când

Figura 6.17 Metode de pregătire a plăcilor pentru numărarea plăcilor, (a) Metoda plăcilor de turnare, (b) Metoda plăcii de împrăștiere.

În ce cazuri ar fi metoda plăcii de turnare mai adecvată decât metoda plăcii de împrăștiere?

microbii care sunt numărați nu vor crește pe medii solide (cum ar fi bacteriile nitrificatoare chimioautotrofe). De asemenea, este utilă atunci când creșterea bacteriilor într-un mediu diferențial lichid este utilizată pentru a identifica microbii (cum ar fi bacteriile coliforme, care fermentează selectiv lactoza în acid, în testarea apei). MPN este doar o afirmație că există o șansă de 95% ca populația bacteriană să se încadreze într-un anumit interval și că NMP este statistic cel mai probabil număr.

Numărarea microscopică directă

În metoda cunoscută sub numele de numărare microscopică directă, un volum măsurat dintr-o suspensie bacteriană este plasat într-o zonă definită pe o lamă de microscop. Din

cauza considerentelor de timp, această metodă este adesea folosită pentru a număra numărul de bacterii din lapte. O probă de 0,01 ml este întinsă pe un centimetru pătrat marcat de lamă, se adaugă colorant astfel încât bacteriile să poată fi văzute, iar proba este vizualizată sub lentila obiectivului de imersie în ulei. Aria câmpului de vizualizare a acestui obiectiv poate fi determinată. Odată ce numărul de bacterii a fost numărat în mai multe câmpuri diferite, se poate calcula numărul mediu de bacterii per câmp de vizualizare. Din aceste date se poate calcula și numărul de bacterii din centimetrul pătrat pe care a fost răspândită proba. Deoarece această zonă de pe lamă conținea 0,01 ml de probă, numărul de bacterii din fiecare mililitru de suspensie este numărul de bacterii din probă înmulțit de 100.

O lamă special concepută numită contor de celule Petroff-Hausser este, de asemenea, utilizată în numărătoarea microscopică directă (Figura 6.20).

Bacteriile mobile sunt greu de numărat prin această metodă și, așa cum se întâmplă cu alte metode microscopice, celulele moarte sunt aproximativ

Ați putea face o placă de turnare în vasul Petri obișnuit cu un inocul de 10 ml? De ce sau

(a) Populațiile bacteriene:n corpuri de apă pot fi determinate prin trecerea unei probe printr-un filtru cu membrană. Aici, bacteriile dintr-o probă de apă de 100 ml au fost cernute pe suprafața unui filtru cu membrană. Aceste bacterii formează colonii vizibile atunci când sunt plasate pe suprafața unui mediu adecvat.

(b) Un filtru membranar cu bacterii pe suprafața sa, așa cum este descris în (a), a fost plasat pe agar Endo. Acest mediu este selectiv pentru bacteriile gram-negative; Fermentatorii de lactoză, cum ar fi coliformii, formează colonii distincte. Sunt vizibile 214 colonii, așa că am înregistra 214 bacterii la 100 ml în proba de apă.

95% încredere

Limite Combinație MPN Index/

de Positive 100 ml Inferioară Superioară

Volumul de

p°ChUe/-Tuburi de mediu nutritiv   Număr de pozitive

FiveTubes <Sets of FiveT^es)   Tube in Set

(a) Seria de diluție cu numărul cel mai probabil (MPN). În acest exemplu, există trei seturi de tuburi și cinci tuburi în fiecare set. Fiecare tub din primul set de cinci tuburi primește 10 ml de inocul, cum ar fi o probă de apă. Fiecare tub din al doilea set de cinci tuburi primește 1 ml de probă, iar al treilea set, 0,1 ml fiecare. Existau suficiente bacterii în probă, astfel încât toate cele cinci tuburi din primul set au prezentat o creștere bacteriană și au fost înregistrate ca pozitive. În al doilea set, care a primit doar o zecime mai mult inocul, doar trei tuburi au fost pozitive. În al treilea set, care a primit o sutime mai mult inocul, doar un tub a fost pozitiv.

(b) MPN tai. e. Tabelele MPN ne permit să calculăm pentru o probă numerele microbiene care sunt susceptibile statistic de a conduce la un astfel de rezultat. Se înregistrează numărul de tuburi pozitive pentru fiecare set: în eX£ e umbrite, 5. 3 și 1. Dacă căutăm această combinație într-un tabel MPN,

♦Indexul Tt î® MPN la 100 ml este de 11°- Statistic, aceasta înseamnă că mat 95/o din probele de apă care dau acest rezultat conțin 34-250 bacterii, 110 fiind numărul cel mai probabil. .

Figura 6.19 Metoda numărului cel mai probabil (MPN).

Grilă cu 25 de pătrate mari

Sticlă de acoperire

Slide

Bacterian

Aici se adaugă suspensie bacteriană și umple volumul puțin adânc peste pătrate prin acțiune capilară.

suspensie

Sticlă de acoperire

Slide -

Numărarea microscopică: Toate celulele din mai multe pătrate mari sunt numărate, iar numerele sunt mediate. Pătratul mare prezentat aici are 14 celule bacteriene.

Figura 6.20 Numărarea microscopică directă a bacteriilor cu un contor de celule Petroff-Hausser. Numărul mediu de celule dintr-un pătrat mare înmulțit cu un factor de 1.250.000 dă numărul de bacterii pe mililitru.

S3 Acest tip ■■)f numărătoare, în ciuda faptului că este evident

, dezavantaje, este adesea folosit în estimarea populației bacteriene din produsele lactate. De ce?

Secțiune transversală a unui numărător de celule.

Sunt cunoscute adâncimea de sub acoperiș și aria pătratelor, astfel încât se poate calcula volumul suspensiei bacteriene peste pătrate (adâncime x aria).

@ Volumul de fluid peste „pătratul mare” este de 1/1.250.000 de mililitru. Dacă conține 14 celule, așa cum se arată aici, atunci există 14 x 1.250.000 = 17.500.000 de celule într-un mililitru.

la fel de probabil să fie socotiţi ca fiind vii. Pe lângă aceste dezavantaje, este necesară o concentrație destul de mare de celule pentru a putea fi numărată - aproximativ 10 milioane de bacterii pe mililitru. Avantajul principal al numărărilor microscopice este că nu este nevoie de timp de incubare și sunt de obicei rezervate pentru aplicații în care timpul este principalul aspect. Acest avantaj este valabil și pentru contoarele electronice de celule, uneori cunoscute sub numele de contoare Coulter, care numără automat numărul de celule dintr-un volum măsurat de lichid. Aceste instrumente sunt folosite în unele laboratoare de cercetare și spitale.

Caz clinic

Bacteriile din sânge și culturile cateterului au fluorescență sub lumină ultravioletă. Rezultatele din cultură arată că P. fluorescens este prezent în sângele a 15 pacienți, în 17 catetere și în sângele și cateterele a patru pacienți. Bacteriile au supraviețuit chiar și după rechemarea heparinei. Dr. MacGruder ar dori să aibă o idee câte bacterii colonizează cateterul unui pacient. Deoarece cantitatea de nutrienți din cateterul unui pacient este minimă, el ajunge la concluzia că bacteriile cresc încet. El face unele calcule bazate pe presupunerea că cinci celule Pseudomonas, cu un timp de generare de 35 de ore, ar fi putut fi introduse inițial în catetere.

Aproximativ câte celule ar fi după o lună?

175

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

De ce este dificil să se măsoare realist creșterea unui izolat de mucegai filamentos prin metoda numărării plăcilor? 6-16

Estimarea numerelor bacteriene prin metode indirecte

Nu este întotdeauna necesară numărarea celulelor microbiene pentru a estima numărul lor. În știință și industrie, numărul și activitatea microbiană sunt determinate și prin unele dintre următoarele mijloace indirecte.

Turbiditate

Pentru unele tipuri de lucrări experimentale, estimarea turbidității este o modalitate practică de monitorizare a creșterii bacteriene. Pe măsură ce bacteriile se înmulțesc într-un mediu lichid, mediul devine tulbure sau tulbure cu celule.

Instrumentul folosit pentru măsurarea turbidității este un spectrofotometru (sau colorimetru). În spectrofotometru, un fascicul de lumină este transmis printr-o suspensie bacteriană către un detector sensibil la lumină (Figura 6.21). Pe măsură ce numărul de bacterii crește, mai puțină lumină va ajunge la detector. Această schimbare de lumină se va înregistra pe scara instrumentului ca procent de transmisie. De asemenea, pe scara instrumentului este imprimată o expresie logaritmică numită absorbanță (uneori numită densitate optică sau OD, care este calculată ca Abs = 2 — log de transmisie procentuală). Absorbanța este utilizată pentru a reprezenta un grafic creșterea bacteriilor. Când bacteriile sunt în creștere sau declin logaritmic, un grafic al absorbanței în funcție de timp va forma o linie aproximativ dreaptă. Dacă citirile de absorbanță sunt corelate cu numărul de plăci din aceeași cultură, această corelație poate fi utilizată în estimările viitoare ale numărului de bacterii obținute prin măsurarea turbidității.

Mai mult de un milion de celule pe mililitru trebuie să fie prezente pentru ca primele urme de turbiditate să fie vizibile. Sunt necesare aproximativ 10 până la 100 de milioane de celule

pe mililitru pentru a face o suspensie suficient de tulbure pentru a fi citită pe un spectrofotometru. Prin urmare, turbiditatea nu este o măsură utilă a contaminării lichidelor cu un număr relativ mic de bacterii.

Activitate metabolică

O altă modalitate indirectă de a estima numărul de bacterii este măsurarea activității metabolice a populației. Această metodă presupune că se află cantitatea dintr-un anumit produs metabolic, cum ar fi acidul sau CO2

' •)Por on °4,1 e numărul de bacterii prezente. Un exemplu de ! ri aPP^c pl un test metabolic este testul microbiologic

în care producția de acid este utilizată pentru a determina cantitățile de vitamine.

Greutate uscată

lui , măsurarea obișnuită

metodele sunt mai puțin satisfăcătoare. Un număr de plăci nu ar măsura este creșterea masei filamentoase. În numărul de actinomicete pe plăci (vezi Tigura 11.20, pagina 320) și mucegaiuri, este numărat în principal numărul de spori asexuați. Aceasta nu este o măsură bună a creșterii. Una dintre cele mai bune moduri de a măsura

creșterea organismelor filamentoase este în greutate uscată. În această procedură, ciuperca este îndepărtată din mediul de creștere, filtrată pentru a îndepărta materialul străin și uscată într-un desicator. Se cântărește apoi. Pentru bacterii, se urmează aceeași procedură de bază.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Metodele directe necesită de obicei un timp de incubație pentru o colonie. De ce nu este întotdeauna posibil acest lucru pentru analiza alimentelor? 6-17

Dacă nu există o metodă bună de analiză a unui produs pentru conținutul său de vitamina i, care este o metodă fezabilă de determinare a conținutului de vitamine? 6-18

* * * ■

Acum aveți o înțelegere de bază a cerințelor și măsurătorilor creșterii microbiene. În capitolul 7, vom analiza modul în care această creștere este controlată în laboratoare, spitale, industrie și casele noastre.

Caz clinic rezolvat

Biofilmele sunt acumulări dense de celule. Cinci celule ar putea trece prin 20 de generații într-o lună, producând 7,79 x 106 celule. Acum, dr. MacGruder știe că bacteriile P.

fluorescens sunt prezente în cateterele reziduale ale pacienților. El ordonă înlocuirea cateterelor și solicită CDC să examineze cateterele folosite cu microscopie electronică de scanare. Ei descoperă că P. fluorescens a colonizat interiorul cateterelor prin formarea de biofilme. În raportul său către CDC, dr. MacGruder explică că bacteriile P. fluorescens au intrat în fluxul sanguin al acestor pacienți în același timp cu primul focar, dar nu în cantități suficiente pentru a provoca simptome în acel moment. Formarea biofilmului a permis bacteriilor să persistă în cateterele pacienților. El observă că studiile anterioare de microscopie electronică indică faptul că aproape toate cateterele vasculare rezidente devin colonizate de microorganisme care sunt încorporate într-un strat de biofilm și că s-a raportat că heparina stimulează formarea biofilmului. Dr. MacGruder concluzionează că bacteriile din biofilm au fost dislocate prin soluții intravenoase necontaminate ulterioare și eliberate în fluxul sanguin, provocând în cele din urmă infecții la luni de la colonizarea inițială.

Schița de studiu

Masterin^MICRCBIOLOGIE

Vă asigur înțelegerea cu chestionare, revizuire a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Cerințele pentru creștere (pag. 154-160)

Creșterea unei populații este o creștere a numărului de celule.

Cerințele pentru creșterea microbiană sunt atât fizice, cât și chimice.

Cerințe fizice (pag. 154-158)

Pe baza intervalelor de temperatură preferate, microbii sunt clasificați în psihrofili (iubitor de frig), mezofili (iubitor de temperatură moderată) și termofili (iubitor de căldură).

Temperatura minimă de creștere este cea mai scăzută temperatură la care o specie va crește, temperatura optimă de creștere este temperatura la care crește cel mai bine, iar temperatura maximă de creștere este cea mai ridicată temperatură la care este posibilă creșterea.

Majoritatea bacteriilor cresc cel mai bine la o valoare a pH-ului cuprinsă între 6,5 și 7,5.

Într-o soluție hipertonă, majoritatea microbilor suferă plasmoliză; halofilele pot tolera concentrații mari de sare.

Cerințe chimice (pag. 158-160)

Toate organismele necesită o sursă de carbon; chemoheterotrofei folosesc o moleculă organică, iar autotrofei folosesc de obicei dioxid de carbon.

Azotul este necesar pentru sinteza proteinelor și a acizilor nucleici. Azotul poate fi obținut din descompunerea proteinelor sau din NH4+ sau NO3 câteva bacterii sunt capabile de fixare a azotului (N2).

Pe baza cerințelor de oxigen, organismele sunt clasificate ca aerobi obligatorii, anaerobi facultativi, anaerobi obligatorii, anaerobii aerotoleranti și microaerofile.

Aerobii, anaerobii facultativi și anaerobii aerotoleranți trebuie

au enzimele superoxid dismutaza (2 02T + 2 H+ > 02 +

H2O2) și fie catalază (2 H2O2——> 2 H20 + O2) fie peroxidază (H2O2 + 2 H4 >2 H20).

Alte substanțe chimice necesare pentru creșterea microbiană includ sulful, fosforul, oligoelementele și, pentru unele microorganisme, factorii organici de creștere.

Biofilme (p. 160-161)

Microbii aderă la suprafețe și se acumulează ca biofilme pe suprafețele solide în contact cu apa.

Biofilmele se formează pe dinți, lentile de contact și catetere.

Microbii din biofilme sunt mai rezistenți la antibiotice decât microbii care înotă liber.

Medii de cultură (p. 161-166)

Un mediu de cultură este orice material pregătit pentru creșterea bacteriilor într-un laborator7.

Microbii care cresc și se înmulțesc în sau pe un mediu de cultură sunt cunoscuți ca o cultură.

Agarul este un agent de solidificare comun pentru un mediu de cultură.

Medii definite chimic (pag. 162)

Un mediu definit chimic este unul în care compoziția chimică exactă este cunoscută.

Complex Media (p. 162-163)

Un mediu complex este unul în care compoziția chimică exactă variază ușor de la lot la lot.

Medii și metode de creștere anaerobe (pag. 163)

Mediile de reducere elimină chimic oxigenul molecular (O2) care ar putea interfera cu creșterea anaerobilor.

Plăcile Petri pot fi incubate într-un borcan anaerob, o cameră anaerobă sau OxyPlate.

Tehnici speciale de cultură (p. 163-165)

Unele bacterii parazite și pretențioase trebuie cultivate la animale vii sau în culturi celulare.

Incubatoarele cu CO2 sau borcanele cu lumânări sunt folosite pentru a crește bacteriile care necesită o concentrație crescută de CO2.

Procedurile și echipamentele pentru a minimiza expunerea la microorganisme patogene sunt desemnate ca niveluri de biosecuritate de la 1 la 4.

Medii selective și diferențiale (pag. 165)

Prin inhibarea organismelor nedorite cu săruri, coloranți sau alte substanțe chimice, mediile selective permit creșterea doar a microbilor doriti.

Mediile diferențiale sunt folosite pentru a distinge diferite organisme.

Cultura de îmbogățire (pp. 165-166)

O cultură de îmbogățire este utilizată pentru a încuraja creșterea unui anumit microorganism într-o cultură mixtă.

Obținerea culturilor pure (pag. 167)

O colonie este o masă vizibilă de celule microbiene care, teoretic, a apărut dintr-o celulă.

Culturile pure se obțin de obicei prin metoda plăcii cu striață.

Conservarea culturilor bacteriene (p. 167-168)

Microbii pot fi conservați pentru perioade lungi de timp prin congelare sau liofilizare (liofilizare).

Creșterea culturilor bacteriene (p. 168-177)

Diviziune bacteriană (pag. 168)

1 Metoda normală de reproducere a bacteriilor este fisiunea binară, în

' pe care o singură celulă îl împarte în două celule identice.

Unele bacterii se reproduc prin înmugurire, formare de spori aerieni sau fragmentare.

Timpul generației (pp. 168-169)

Timpul necesar pentru ca o celulă să se dividă sau o populație să se dubleze este cunoscut sub denumirea de timp de generare.

Reprezentarea logaritmică a bacteriilor

Populații (p. 169-170)

Diviziunea bacteriană are loc conform unei progresii logaritmice (două celule, patru celule, opt celule și așa mai departe).

Fazele de creștere (pp. 170-171)

În timpul fazei de întârziere, numărul de celule se modifică puțin sau deloc, dar activitatea metabolică este ridicată.

În timpul fazei de log, bacteriile se înmulțesc în cel mai rapid ritm posibil în condițiile prevăzute.

În timpul fazei staționare, există un echilibru între diviziunea celulară și moarte.

În timpul fazei morții, numărul deceselor depășește numărul de celule noi formate.

Măsurarea directă a creșterii microbiene (pag. 171-175)

Un număr de plăci heterotrofe reflectă numărul de microbi viabili și presupune că fiecare bacterie crește într-o singură colonie; numărul de plăci este raportat ca număr de unități formatoare de colonii (CFU).

Numărarea plăcii se poate face fie prin metoda plăcii de turnare, fie prin metoda plăcii de împrăștiere.

La filtrare, bacteriile sunt reținute pe suprafața unui filtru cu membrană și apoi transferate într-un mediu de cultură pentru a crește și, ulterior, a fi numărate.

Metoda numărului cel mai probabil (MPN) poate fi utilizată pentru microbii care vor crește într-un mediu lichid; este o estimare statistică.

Într-o numărare microscopică directă, microbii dintr-un volum măsurat al unei suspensii bacteriene sunt numărați cu ajutorul unei lame special concepute.

Estimarea numerelor bacteriene prin indirect

Metode (p. 175-177)

; 4. Un spectrofotometru este folosit pentru a determina turbiditatea prin măsurarea cantității de lumină care trece printr-o suspensie de celule.

O modalitate indirectă de estimare a numărului de bacterii este măsurarea activității metabolice a populației (de exemplu, producția de acid sau consumul de oxigen).

Pentru organismele filamentoase, cum ar fi ciupercile, măsurarea greutății uscate este o metodă convenabilă de măsurare a creșterii.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Descrie fisiunea binară. •

Macronutrienții (necesarii în cantități relativ mari) sunt adesea enumerați ca CHONPS. Ce indică fiecare dintre aceste litere și de ce sunt necesare celulei?

Definiți și explicați importanța fiecăruia dintre următoarele:

catalaza

peroxid de hidrogen

peroxidaza

radical superoxid

superoxid dismutaza

În acest capitol au fost explicate șapte metode de măsurare a creșterii microbiene. Clasificați fiecare ca metodă directă sau indirectă.

Prin congelare adâncă, bacteriile pot fi păstrate fără a fi afectate pentru perioade lungi de timp. De ce refrigerarea și congelarea conservă alimentele?

Un patiser a inoculat accidental o placinta cu crema cu sase celule S. aureus. S. aureus are un timp de generare de 60 de minute, câte celule ar fi în plăcinta cu cremă după 7 ore?

Azotul și fosforul adăugate pe plaje în urma unei scurgeri de petrol încurajează creșterea bacteriilor naturale care degradează petrolul. Explicați de ce bacteriile nu cresc dacă nu se adaugă azot și fosfor.

I) diferențiază mediile complexe și definite chimic.

EffiW 1 Desenați următoarele curbe de creștere pentru E. coli, începând cu 100 de celule cu un timp de generare de 30 de minute la 35°C,

60 de minute la 20°C și 3 ore la 5°C.

Celulele sunt incubate timp de 5 ore la 35°C.

După 5 ore, temperatura este schimbată la 20°C timp de 2 ore.

După 5 ore la 35°C, temperatura se schimbă la 5°C pt

2 ore urmate de 35°C timp de 5 ore.

Alegere Multiplă

Folosiți următoarele informații pentru a răspunde la întrebările 1 și 2.7 în care mediile de cultură au fost inoculate cu patru bacterii diferite. După incubare, s-au obținut următoarele rezultate:

Mediul 1 este

selectiv.

diferenţial.

atât selective cât și diferențiale.

Mediul 2 este

selectiv.

diferenţial.

atât selective cât și diferențiale.

Utilizați următorul grafic pentru a răspunde la întrebările 3 și 4.

Timp

Care dintre linii descrie cel mai bine faza log a unui termofil incubat la temperatura camerei?

Care dintre rânduri descrie cel mai bine faza log a Listeria monocytogenes care crește la un om?

Să presupunem că ați inoculat 100 de celule anaerobe facultativ pe agar nutritiv și ați incubat placa aerob. Apoi ați inoculat 100 de celule din aceeași specie pe agar nutritiv și ați incubat a doua placă în mod anaerob. După incubare timp de 24 de ore, ar trebui să aveți

mai multe colonii pe placa aerobă.

mai multe colonii pe placa anaerobă.

același număr de colonii pe ambele plăci.

Termenul oligoelemente se referă la

elementele CHONPS.

vitamine.

azot, fosfor și sulf.

cerințe mici de minerale.

substante toxice.

Care dintre următoarele temperaturi ar ucide cel mai probabil un mezofil?

— 50°C

0°C

9°C

37°C

60°C

Care dintre următoarele nu este o caracteristică a biofilmelor?

rezistenta la antibiotice

hidrogel

deficit de fier

cvorum sensing

Care dintre următoarele tipuri de medii nu ar fi utilizate pentru cultivarea aerobilor?

medii selective

media de reducere

medii de îmbogățire

medii diferențiale

medii complexe

Un organism care are peroxidază și superoxid dismutază, dar nu are catalază este cel mai probabil un

aerob.

anaerob aerotolerant.

anaerob obligat.

Gândire critică

E. coli a fost incubată cu aerare într-un mediu nutritiv care conține două surse de carbon și s-a făcut următoarea curbă de creștere din această cultură.

Explicați ce s-a întâmplat la momentul marcat cu x.

Care substrat a oferit condiții „mai bune” de creștere pentru bacterii? Cum poți să spui?

x

Timp

Clostridium și Streptococcus sunt ambele catalaze negative. Streptococul crește prin fermentație. De ce Clostridium este ucis de oxigen, în timp ce Streptococcus nu este?

Majoritatea mediilor de laborator conțin un carbohidrat fermentabil și peptonă, deoarece majoritatea bacteriilor necesită carbon, azot și surse de energie în aceste forme. Cum sunt îndeplinite aceste trei nevoi de mediul cu săruri minime de glucoză? (Sugestie: vezi Tabelul 6.2.)

Balonul A conține celule de drojdie în bulion de săruri minime de glucoză incubat la 30°C cu aerare. Balonul B conține celule de drojdie în bulion de săruri minime de glucoză incubat la 30°C într-un borcan anaerob. Drojdiile sunt anaerobe facultative.

Care cultură a produs mai mult ATP?

Care cultură a produs mai mult alcool?

Care cultură a avut timpul de generație mai scurt?

Care cultură a avut masa celulară mai mare?

Care cultură a avut absorbanța mai mare?

Aplicații clinice

1 Să presupunem că, după ce vă spălați pe mâini, lăsați zece celule bacteriene pe o nouă bucată de săpun. Apoi decideți să faceți o numărătoare a săpunului după ce a fost lăsat în săpună timp de 24 de ore. Diluați 1 gof de săpun 1:106 și îl puneți pe agar heterotrof. După 24 de ore de incubație, există 168 de colonii. Câte bacterii erau pe săpun? Cum au ajuns acolo?

Lămpile de căldură sunt utilizate în mod obișnuit pentru a menține alimentele la aproximativ 50°C timp de până la 12 ore în liniile de servire a cantinei. Următorul experiment a fost efectuat pentru a determina dacă această practică prezintă un pericol potențial pentru sănătate.

Cuburile de carne de vită au fost inoculate la suprafață cu 500.000 de celule bacteriene și incubate la 43-53°C pentru a stabili limitele de temperatură pentru creșterea bacteriană. Următoarele rezultate au fost obținute din numărările pe plăci heterotrofe efectuate pe cuburi de vită la 6 și 12 ore după inoculare:

Bacteriile per gram de carne de vită După

Desenați curbele de creștere pentru fiecare organism. Ce temperatură de menținere ați recomanda? Presupunând că gătitul ucide bacteriile din alimente, cum ar putea aceste bacterii să contamineze alimentele gătite? Ce boală provoacă fiecare organism? (Sugestie: vezi capitolul 25.)

Numărul de bacterii din probele de salivă a fost determinat prin colectarea salivei, făcând diluții în serie și inoculând agar nutritiv prin metoda plăcii de turnare. Plăcile au fost incubate aerob timp de 48 de ore la 37°C.

Bacteriile per ml de saliva

Înainte de utilizare	**După utilizare**	
. Apa de		**gura Apa de gura**
Apă de gură!	13,1 x106	10,9x106
Apa de gură 2	11,7X106	14,2x1®
Apa de gură 3	9,3 x 105	7,7 X 105

Ce puteți concluziona din aceste date? Au crescut toate bacteriile prezente în fiecare probă de salivă?

Controlul creșterii microbiene

T

controlul științific al creșterii microbiene a început cu aproximativ 100 de ani în urmă.

Amintesc din capitolul 1 că munca lui Pasteur asupra microorganismelor i-a determinat pe oamenii de știință să creadă că microbii sunt o posibilă cauză a bolii. La mijlocul anilor 1800, medicul maghiar Ignaz Semmelweis și medicul englez Joseph Lister au folosit această gândire pentru a dezvolta unele dintre primele practici de control microbian pentru proceduri medicale. Aceste practici includ spălarea mâinilor cu clorură de var care distruge microbi și utilizarea tehnicilor de chirurgie aseptică pentru a preveni contaminarea microbiană a rănilor chirurgicale. Până în acel moment, infecțiile dobândite în spital, sau infecțiile nosocomiale, au fost cauza decesului în cel puțin 10% din cazurile chirurgicale și până la 25% la mamele care nașteau. Ignoranța microbilor a fost de așa natură încât, în timpul războiului civil american, un chirurg ar fi putut curăța bisturiul de pe talpa cizmei, între incizii. Acum știm că spălarea mâinilor este cea mai bună modalitate de a preveni transmiterea agenților patogeni, cum ar fi norovirusul din fotografie. Controlul norovirusurilor de pe suprafețele mediului este subiectul Cazului Clinic.

În ultimul secol, oamenii de știință au continuat să dezvolte o varietate de metode fizice și agenți chimici pentru a controla creșterea microbiană. În capitolul 20 vom discuta despre metodele de control al microbilor odată ce a apărut infecția, în principal chimioterapia cu antibiotice.

Terminologia controlului microbian

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

7-1 Definiți următorii termeni cheie legați de controlul microbian: sterilizare, dezinfecție, antisepsie, degerming, igienizare, biocid, germicid, bacteriostază și asepsie.

Un cuvânt folosit frecvent și greșit în discutarea controlului creșterii microbiene este sterilizarea. Sterilizarea este îndepărtarea sau distrugerea tuturor microorganismelor vii. Încălzirea este cea mai comună metodă folosită pentru uciderea microbilor, inclusiv a celor mai rezistente forme, cum ar fi endosporii. Un agent de sterilizare se numește sterilizant. Lichidele sau gazele pot fi sterilizate prin filtrare.

S-ar crede că conservele din supermarket sunt complet sterile. În realitate, tratamentul termic necesar pentru a asigura sterilitatea absolută ar degrada în mod inutil calitatea alimentelor. În schimb, alimentele sunt supuse doar unei călduri suficiente pentru a distruge endosporii Clostridium botulinum (bo-tu-li'num), care poate produce o toxină mortală. Acest tratament termic limitat este denumit sterilizare comercială. Endosporii unui număr de bacterii termofile, capabile să provoace alterarea alimentelor, dar nu boli umane, sunt considerabil mai rezistenți la căldură decât C. botulinum. Dacă sunt prezente, vor supraviețui, dar supraviețuirea lor nu are de obicei nicio consecință practică; nu vor crește la temperaturi normale de depozitare a alimentelor. Dacă alimentele conservate într-un

supermarket ar fi incubate la temperaturi în intervalul de creștere al acestor termofile (peste aproximativ 45°C), s-ar produce o alterare semnificativă a alimentelor.

Sterilizarea completă nu este adesea necesară în alte setări. De exemplu, apărarea normală a organismului poate face față câțiva microbi care intră într-o rană chirurgicală. Un pahar de băut sau o furculiță într-un restaurant necesită doar suficient control microbian

Caz clinic: O epidemie școlară

Este ora 9:00 într-o dimineață de miercuri, iar Amy Garza, asistenta școlii de la școala elementară Westview din Rockville, Maryland, a vorbit de când a venit la serviciu la 7:00. Până acum, în această dimineață, a primit rapoarte despre elevi care nu au putut merge astăzi la școală din cauza unui fel de afecțiune gastrointestinală. Toți au aceleași simptome: greață și vărsături, diaree și febră scăzută. În timp ce Amy ridică telefonul pentru a suna directorul pentru a-i oferi o actualizare, primește al optulea apel al zilei. Keith Jackson, un profesor de clasa I care a fost bolnav de luni, o sună pentru a-i spune lui Amy că medicul său i-a trimis proba de scaun la laborator pentru testare. Rezultatele au revenit pozitive pentru norovirus.

Ce este norovirusul? Citiți mai departe pentru a afla.

prevenirea transmiterii microbilor eventual patogeni de la o persoană la alta.

Controlul îndreptat spre distrugerea microorganismelor dăunătoare se numește dezinfecție. De obicei, se referă la distrugerea patogeilor vegetative (ne-formatoare de endospori), wbicn este același lucru cu sterilitatea completă. Dezinfecția poate folosi substanțe chimice, radiații ultraviolete, apă clocotită sau abur. În practică, termenul se aplică cel mai frecvent la utilizarea unei substanțe chimice (un dezinfectant) pentru a trata o suprafață sau o substanță inertă. Atunci când acest tratament este îndreptat către țesutul viu, este apel . antisepsie, iar substanța chimică este apoi numită antiseptic. Prin urmare, în practică, aceeași substanță chimică ar putea fi numită un dezinfectant pentru o utilizare și un antiseptic pentru alta. Desigur, multe substanțe chimice potrivite pentru ștergerea unei mese ar fi prea dure pentru a fi folosite pe țesutul viu.

Există modificări de dezinfecție și antisepsie. De exemplu, când cineva este pe cale să primească o injecție, pielea este tamponată cu alcool - procesul de degerming (sau degermatiori), care are ca rezultat îndepărtarea mecanică, mai degrabă decât uciderea, a majorității microbilor dintr-o zonă limitată. Articolele din sticlă, porțelanul și vesela pentru restaurante sunt supuse igienizării, care are scopul de a reduce numărul de microbi la niveluri sigure de sănătate publică și de a minimiza șansele de transmitere a bolii de la un utilizator la altul. Acest lucru se realizează de obicei prin spălare la temperatură înaltă sau,

în cazul articolelor din sticlă dintr-un bar, spălare într-o chiuvetă urmată de o scufundare într-un dezinfectant chimic.

Tabelul 7.1 rezumă terminologia referitoare la controlul creșterii microbiene.

Numele tratamentelor care provoacă moartea totală a microbilor au sufixul -cide, adică ucide. Un biocid, sau germicid, ucide microorganismele (de obicei, cu anumite excepții, cum ar fi endosporii); o. fungicidul ucide ciupercile; un virucid inactivează virușii; și așa mai departe. Alte tratamente doar inhibă creșterea și multiplicarea bacteriilor; numele lor au sufixul -stat sau -stasis, adică a opri sau a stabili, ca în bacteriostază. Odată ce un agent bacteriostatic este îndepărtat, creșterea se poate relua.

Sepsis, din limba greacă pentru putrezire sau putred, indică contaminarea bacteriană, ca în fosele septice pentru tratarea apelor uzate. (Termenul este folosit și pentru a descrie o afecțiune; vezi Capitolul 23, pagina 646.) Aseptic înseamnă că? un obiect sau o zonă este liberă de agenți patogeni. Amintiți-vă din capitolul 1 că asepsia este absența unei contaminări semnificative. Tehnicile aseptice sunt importante în chirurgie pentru a minimiza contaminarea de la instrumente, personalul operator și pacient.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Definiţia obişnuită a sterilizării este îndepărtarea sau distrugerea vieţii „c' l-' °biale; cum ar putea exista excepții practice de la această definiție simplă? 7-1

Rata morții microbiene

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

7-2 Descrieți modelele c moartea microbiană cauzată de tratamente cu agenți de control microbian.

TABELUL 7.1 Terminologie referitoare la controlul creșterii microbiene

Comentarii de definiție

Sterilizare Distrugerea sau îndepărtarea tuturor formelor de viață microbiană, inclusiv a endosporilor, dar cu posibila excepție a prionilor.

Tratament termic adecvat pentru a ucide endosporii

Sterilizare •Jostddium botulinum în conserve.

Dezinfecție Distrugerea agenților patogeni vegetativi.

Antisepsie Distrugerea agenților patogeni vegetativi de pe țesutul viu.

Degerming Îndepărtarea microbilor dintr-o zonă limitată, cum ar fi pielea din jurul locului de injectare.

Tratamentul de igienizare are scopul de a scădea numărul de microbi la ustensilele de mâncat și de mâncat la niveluri sigure de sănătate publică.

Când populațiile bacteriene sunt încălzite sau tratate cu substanțe chimice antimicrobiene, de obicei mor într-un ritm constant. De exemplu, să presupunem că o populație de 1 milion de microbi a fost tratată timp de 1 minut și 90% din populație a murit. Acum am rămas cu 100.000 de microbi. Dacă populația este tratată încă un minut, 90% dintre acești microbi mor și rămânem cu 10.000 de supraviețuitori. Cu alte cuvinte, pentru fiecare minut în care se aplică tratamentul, 90% din populația rămasă este ucisă (Tabelul 7.2). Dacă curba morții este reprezentată logaritmic, rata mortalității este constantă, așa cum se arată în linia dreaptă din Figura 7.1a.

Mai mulți factori influențează eficacitatea tratamentelor antimicrobiene:

Cu cât numărul de microbi, cu cât există mai mulți microbi, cu atât este nevoie de mai mult pentru a elimina întreaga populație (Figura 7.1 b).

Influențe de mediu. Prezența materiei organice inhibă adesea acțiunea antimicrobienelor chimice. În spitale, prezența materiei organice în sânge, vărsături,

sau fecalele influenţează selecţia dezinfectanţilor. Microbii din biofilmele de suprafaţă (vezi pagina 160) sunt greu de atins de către biocide în mod eficient. Deoarece activitatea lor se datorează reacţiilor chimice dependente de temperatură, dezinfectanţii funcţionează ceva mai bine în condiţii calde.

Natura mediului de suspendare este, de asemenea, un factor în tratamentul termic. Grăsimile și proteinele sunt deosebit de protectoare, iar un mediu bogat în aceste substanțe protejează microbii, care vor avea apoi o rată de supraviețuire mai mare. Căldura este, de asemenea, mult mai eficientă în condiții acide.

Timpul de expunere. Antimicrobienele chimice necesită adesea expunere prelungită pentru a afecta microbii sau endosporii mai rezistenți. Consultați discuția despre tratamente echivalente la pagina 188.

Caracteristicile microbiene, secțiunea finală a acestui capitol discută modul în care caracteristicile microbiene afectează alegerea metodelor de control chimic și fizic.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum este posibil ca o soluție care conține un milion de bacterii să dureze mai mult pentru sterilizare decât una care conține jumătate de milion de bacterii? 7-2

Acțiuni ale agenților de control microbian

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

7-3 Descrieți efectele agenților de control microbian asupra structurilor celulare.

În această secțiune, examinăm modurile în care diverși agenți ucid sau inhibă microbii.

Modificarea permeabilității membranei

Membrana plasmatică a unui microorganism (vezi Figura 4.14, pagina 89), situată chiar în interiorul peretelui celular, este ținta multor agenți de control microbian. Membrana lui reglează activ trecerea

nutrienți în celulă și eliminarea deșeurilor din celulă. Deteriorarea lipidelor sau proteinelor membranei plasmatice de către agenții antimicrobieni determină scurgerea conținutului celular în mediul înconjurător și interferează cu creșterea celulei.

Deteriorarea proteinelor și acizilor nucleici

Bacteriile sunt uneori considerate „pungi mici de enzime". Enzimele, care sunt în primul rând proteine, sunt vitale pentru toate activitățile celulare. Amintiți-vă că proprietățile funcționale ale proteinelor sunt rezultatul formei lor tridimensionale (vezi Figura 2.15, pagina 45). Această formă este menținută prin legături chimice care leagă porțiunile adiacente ale lanțului de aminoacizi în timp ce se pliază înainte și înapoi pe sine. Unele dintre aceste legături sunt legături de hidrogen, care sunt susceptibile de rupere de căldură sau de anumite substanțe chimice; ruperea are ca rezultat uenaturarea proteinei. Legăturile covalente sunt mai puternice, dar sunt, de asemenea, supuse atacului. De exemplu, punțile disulfurice, care joacă un rol important în structura proteinelor prin unirea acizilor amii și a grupărilor sulfhidril (—SH) expuse, pot fi rupte de anumite substanțe chimice sau de căldură suficientă.

Acizii nucleici ADN și ARN sunt purtătorii informațiilor genetice ale celulei. Deteriorarea acestor acizi nucleici prin căldură, radiații sau substanțe chimice este adesea letală pentru celulă; celula nu se mai poate replica și nici nu poate îndeplini funcții metabolice normale, cum ar fi sinteza enzimelor.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Un agent chimic de control microbian care afectează membranele plasmatice ar afecta oamenii? 7-3

Metode fizice de control microbian

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

7-4 Comparați eficiența căldurii umede (fierberea, autoclavarea, pasteurizarea) și căldura uscată.

7-5 Descrieți modul în care filtrarea, temperaturile scăzute, presiunea ridicată, uscarea și presiunea jsmotică suprimă creșterea microbiană.

7-6 Explicați cum radiațiile ucid celulele.

Încă din. Epoca de piatră, oamenii probabil utilizau deja unele metode fizice de control microbian pentru a conserva alimentele. Uscarea (deshidratarea) și sărarea (presiunea osmotică) au fost probabil printre cele mai vechi tehnici.

Atunci când alegeți metode de control microbian, trebuie să luați în considerare ce altceva, în afară de microbi, se va aplica o anumită metodă. De exemplu, căldura poate inactiva anumite vitamine sau antibiotice dintr-o soluție. Încălzirea repetată dăunează multor materiale de laborator și spital, cum ar fi tuburile de cauciuc și latex. Există și considerente economice; de exemplu, poate fi mai puțin costisitor să folosești articole din plastic presterilizate, de unică folosință decât spălarea și resterilizarea în mod repetat a articolelor din sticlă.

Căldură

O vizită la orice supermarket va demonstra că conservele conservate la căldură reprezintă una dintre cele mai comune metode de conservare a alimentelor. Căldura este, de asemenea, utilizată de obicei pentru a steriliza mediile de laborator și sticlăria și instrumentele spitalicești. Căldura pare să omoare microorganismele prin denaturarea enzimelor acestora; modificările rezultate ale formelor tridimensionale ale acestor proteine le inactivează (vezi Figura 5.6, pagina 117).

Rezistența la căldură variază între diferiți microbi; aceste diferențe pot fi exprimate prin conceptul de punct de moarte termică. Punctul de moarte termică (TDP) este cea mai scăzută temperatură la care toate microorganismele dintr-o anumită suspensie lichidă vor fi ucise în 10 minute.

Un alt factor care trebuie luat în considerare în sterilizare este durata de timp necesară. Acesta este exprimat ca timp de moarte termică (TDT), durata minimă de timp pentru ca toate bacteriile dintr-o anumită cultură lichidă să fie ucise la o anumită temperatură. Atât TDP, cât și TDT sunt ghiduri utile care indică severitatea tratamentului necesar pentru a ucide o anumită populație de bacterii.

Timpul de reducere zecimal (DRT, sau valoarea D) este un al treilea concept legat de rezistența bacteriană la căldură. DRT este timpul, în minute, în care 90% dintr-o populație de bacterii la o anumită temperatură va fi ucisă (în Tabelul 7.2 și Figura 7.1a, DRT este de 1 minut). În capitolul 28 puteți găsi o aplicație importantă a DRT în industria conservelor, precum și o discuție despre tratarea 12D a conservelor.

Sterilizare cu căldură umedă

Căldura umedă ucide microorganismele în primul rând prin coagularea proteinelor (denaturare), care este cauzată de ruperea legăturilor de hidrogen care țin proteinele în structura lor tridimensională. Acest proces de coagulare este familiar pentru oricine a văzut un albuș de ou prăjit.

Un tip de „sterilizare” cu căldură umedă este fierberea, care ucide formele vegetative ale agenților patogeni bacterieni, aproape toți virusurile și ciupercile și sporii acestora în aproximativ 10 minute, de obicei mult mai rapid. Aburul care curge liber (nepresurizat) are în esență aceeași temperatură cu apa clocotită. Cu toate acestea, endosporii și unii viruși nu sunt distruși atât de repede. Unii virusuri ale hepatitei, de exemplu, pot supraviețui până la 30 de minute de fierbere, iar unii endospori bacterieni pot rezista fierberii mai mult de 20 de ore. Prin urmare, fierberea nu este întotdeauna o procedură de sterilizare fiabilă. Cu toate acestea, fierberea scurtă, chiar și la altitudini mari, va ucide majoritatea agenților patogeni. Utilizarea fierberii pentru a igieniza biberoanele de sticlă este un exemplu familiar.

Sterilizarea fiabilă cu căldură umedă necesită temperaturi peste cea a apei clocotite. Aceste temperaturi ridicate sunt cel mai frecvent atinse de abur sub presiune într-o autoclavă (Figura 7.2). Autoclavarea este metoda preferată de sterilizare, cu excepția cazului în care materialul de sterilizat poate fi deteriorat de căldură sau umiditate.

Cu cât presiunea în autoclavă este mai mare, cu atât temperatura este mai mare. De exemplu, atunci când aburul care curge liber la o temperatură de 100 °C este plasat sub o presiune de 1 atmosferă peste presiunea nivelului mării - adică aproximativ 15 livre de presiune pe inch pătrat (psi) - temperatura crește la 121 °C. Creșterea presiunii la 20 psi crește temperatura la 126°C. Relația dintre temperatură și presiune este prezentată în Tabelul 7.3.

Sterilizarea într-o autoclavă este cea mai eficientă atunci când organismele fie sunt contactate direct de abur, fie sunt conținute într-un volum mic de lichid apos (în principal apă). În aceste condiții, aburul la o presiune de aproximativ 15 psi (121°C) va ucide toate organismele (dar nu prionii, vezi pagina 395) și endosporii lor în aproximativ 15 minute.

Autoclavarea este utilizată pentru sterilizarea mediilor de cultură, instrumentelor, pansamentelor, echipamentelor intravenoase, aplicatoarelor, soluțiilor, seringilor, echipamentelor de transfuzie și a numeroaselor alte articole care pot rezista la temperaturi și presiuni ridicate. Autoclavele industriale mari se numesc retorte (vezi Figura 28.2 la pagina 801), dar același principiu se aplică și pentru oala sub presiune de uz casnic utilizată în conservarea alimentelor.

Căldura necesită timp suplimentar pentru a ajunge în centrul materialelor solide, cum ar fi conservele de carne, deoarece astfel de materiale nu dezvoltă curenții de convecție eficienti care distribuie căldura care apar în lichide. Încălzirea recipientelor mari necesită, de

asemenea, timp suplimentar. Tabelul 7.4 prezintă diferitele cerințe de timp pentru sterilizarea lichidelor în diferite dimensiuni de recipient.

Spre deosebire de sterilizarea soluțiilor apoase, sterilizarea suprafeței unui solid necesită ca aburul să intre în contact cu acesta. Pentru a steriliza sticlăria uscată, bandajele și altele asemenea, trebuie avut grijă să vă asigurați că aburul intră în contact cu toate suprafețele. De exemplu, folia de aluminiu este impermeabilă la abur și nu trebuie utilizată pentru a împacheta materiale uscate care urmează să fie sterilizate; ar trebui folosită în schimb hârtie. De asemenea, trebuie avut grijă pentru a evita prinderea aerului în fundul unui recipient uscat: aerul captat nu va fi înlocuit cu abur, deoarece aburul este

Relația dintre presiune și

TABELUL 7,3 Temperatura aburului la nivelul mării*

*La altitudini mai mari, presiunea atmosferica este mai mica, fenomen de care trebuie luat in considerare in functionarea unei autoclave. De exemplu, pentru a atinge temperaturi de sterilizare (121 °C) în Denver, Colorado, a cărui altitudine este de 5280 de picioare (1600 de metri), presiunea afișată pe manometrul autoclavei ar trebui să fie mai mare decât 15 psi indicată în tabel.

Efectul dimensiunii containerului asupra autoclavei

TABEL 7 ©   Timpi de sterilizare pentru soluții lichide*

*—timpii de rilizare în autoclavă includ timpul pentru conținutul recipientelor r<> reac-temperaturile de sterilizare. Pentru recipientele mai mici, acest lucru este de doar 5 minute sau mai puțin, dar pentru o sticlă de 9000 ml ar putea fi până la 70 rnin. De obicei, un container nu este umplut peste 75% din capacitatea sa.

mai usoara decat aerul. Aerul captat este echivalentul unui mic cuptor cu aer cald, care, după cum vom vedea în curând, necesită o temperatură mai mare și un timp mai lung pentru sterilizarea materialelor. Containerele care pot capta aerul trebuie plasate într-o poziție înclinată, astfel încât aburul să forțeze aerul. Produsele care nu permit pătrunderea umezelii, cum ar fi uleiul mineral sau vaselina, nu sunt sterilizate prin aceleași metode folosite pentru sterilizarea soluțiilor apoase.

. v efal metodele disponibile comercial pot indica dacă tratamentul termic a realizat sterilizarea. Unele dintre acestea sunt reacții chimice în care un indicator își schimbă culoarea când au fost atinse timpii și temperaturile adecvate (Figura 7.3). În unele modele,

cuvântul steril sau autoclavat apare pe ambalaje sau benzi. Un test utilizat pe scară largă constă în preparate din specii specificate de endospori bacterieni impregnați în benzi de hârtie. După ce benzile sunt autoclavate, acestea pot fi apoi inoculate aseptic în medii de cultură. Creșterea în mediile de cultură indică supraviețuirea endosporilor și, prin urmare, procesarea inadecvată. >Alte modele folosesc suspensii de endospori care pot fi eliberate, după încălzire, într-un mediu de cultură înconjurător în cadrul aceluiași flacon.

Aburul sub presiune nu se sterilizează atunci când aerul nu este complet evacuat. Acest lucru se poate întâmpla cu închiderea prematură a supapei de evacuare automată a autoclavei (vezi Figura 7.2). Principiile sterilizării termice au o influență directă asupra conservelor acasă. După cum știe oricine familiarizat cu conservarea acasă, aburul trebuie să curgă viguros din supapa din capac timp de câteva minute pentru a transporta cu el tot aerul înainte ca oala sub presiune să fie sigilată. Dacă aerul nu este complet evacuat, recipientul nu va atinge temperatura așteptată pentru o anumită presiune. Din cauza posibilității apariției botulismului, un fel de otrăvire alimentară rezultată din metodele de conservare necorespunzătoare (vezi Capitolul 22, pagina 622), oricine face conserve acasă ar trebui să obțină instrucțiuni de încredere și să le urmeze întocmai.

Pasteurizare

Amintiți-vă din capitolul 1 că în primele zile ale microbiologiei, Louis Pasteur a găsit o metodă practică de prevenire a deteriorării berii și vinului. Pasteur a folosit o încălzire ușoară, care a fost suficientă pentru a ucide organismele care au cauzat problema particulară de alterare, fără a deteriora grav gustul produsului. Același principiu a fost aplicat ulterior laptelui pentru a produce ceea ce numim acum lapte pasteurizat. Intenția pasteurizării laptelui a fost de a elimina microbii patogeni. De asemenea, scade numărul microbian, ceea ce prelungește calitatea bună a laptelui la frigider. Multe bacterii relativ rezistente la căldură (termodurice) supraviețuiesc pasteurizării, dar este puțin probabil ca acestea să provoace boli sau să provoace stricarea laptelui refrigerat.

Alte produse decât laptele, cum ar fi înghețata, iaurtul și berea, toate au timpi și temperaturi de pasteurizare proprii, care diferă adesea considerabil. Există mai multe motive pentru aceste variații. De exemplu, încălzirea este mai puțin eficientă în alimentele care sunt mai vâscoase, iar grăsimile din alimente pot avea un efect protector.

Ce ar fi trebuit folosit în loc de folie de aluminiu pentru a împacheta articolele?

efect asupra microorganismelor. „Industria produselor lactate folosește în mod obișnuit un test pentru a determina dacă produsele au fost pasteurizate: testul fosfatazei (fosfataza este o enzimă prezentă în mod natural în lapte). Dacă produsul a fost pasteurizat, fosfataza va fi inactivată.

Majoritatea pasteurizării laptelui de astăzi utilizează temperaturi de cel puțin 72°C, dar pentru doar 15 secunde. Acest tratament, cunoscut sub numele de pasteurizare de scurtă durată la temperatură înaltă (HTST), este aplicat pe măsură ce laptele curge continuu pe

lângă un schimbător de căldură. Pe lângă uciderea agenților patogeni, pasteurizarea HTST scade numărul total de bacterii, astfel încât laptele se păstrează bine la frigider.

Laptele poate fi, de asemenea, sterilizat - ceva destul de diferit de pasteurizare - prin tratamente la temperaturi ultra-înalte (UHT). Apoi poate fi păstrat timp de câteva luni fără refrigerare (vezi și sterilizarea comercială, pagina 800). Laptele tratat UHT este vândut pe scară largă în Europa și este necesar în special în părțile mai puțin dezvoltate ale lumii, unde instalațiile de refrigerare nu sunt întotdeauna disponibile. În Statele Unite, UHT este uneori folosit pe recipientele mici de creme de cafea găsite în restaurante. Pentru a evita să dea laptelui un gust gătit, procesul evită ca laptele să atingă o suprafață mai fierbinte decât laptele în sine. De obicei, laptele lichid (sau sucul) este pulverizat printr-o duză într-o cameră umplută cu abur la temperatură înaltă sub presiune. Un volum mic de fluid pulverizat într-o atmosferă de abur la temperatură înaltă expune o suprafață relativ mare a picăturilor de fluid la încălzire prin

este un aparat de filtrare din plastic presterilizat? (Să presupunem că aburul; temperaturile de sterilizare sunt atinse aproape instantaneu. După atingerea temperaturii de 140°C timp de 4 secunde, lichidul este răcit rapid într-o cameră cu vid. Laptele sau sucul este apoi ambalat într-un recipient presterilizat, etanș.

Tratamentele termice pe care tocmai le-am discutat ilustrează conceptul de tratamente echivalente: pe măsură ce temperatura crește, este nevoie de mult mai puțin timp pentru a ucide aceiași număr de microbi. De exemplu, distrugerea endosporilor foarte rezistenți ar putea dura 70 de minute la 115°C, în timp ce doar 7 minute ar putea fi necesare la 125°C. Ambele tratamente dau același rezultat.

Sterilizare la caldura uscata

Căldura uscată ucide prin efecte de oxidare. O analogie simplă este carbonizarea lentă a hârtiei într-un cuptor încălzit, chiar și atunci când temperatura rămâne sub punctul de aprindere al hârtiei. Una dintre cele mai simple metode de sterilizare cu căldură uscată este arderea directă. Veți folosi această procedură de multe ori în laboratorul de microbiologie atunci când sterilizați ansele de inoculare. Pentru a steriliza eficient ansa de inoculare, încălziți firul până la o strălucire roșie. Un principiu similar este utilizat în incinerare, o modalitate eficientă de sterilizare și eliminare a paharelor, pungilor și pansamentelor contaminate de hârtie.

O altă formă de sterilizare cu căldură uscată este sterilizarea cu aer cald. Articolele care urmează să fie sterilizate prin această procedură sunt introduse într-un cuptor. În general, o temperatură de aproximativ 170°C menținută timp de aproape 2 ore asigură sterilizarea. Perioada mai lungă și temperatura mai mare (față de căldura umedă.) sunt necesare deoarece căldura din apă este mai ușor transferată către un corp rece decât este căldura din aer. De exemplu, imaginați-vă efectele diferite de a vă scufunda mâna în apă clocotită la 00 C (212 F) și de a o ține într-un cuptor cu aer cald la aceeași temperatură pentru aceeași perioadă de timp.

Filtrare

Amintiți-vă din capitolul 6 că filtrarea este trecerea unui lichid sau gaz printr-un material asemănător ecranului cu pori suficient de mici pentru a reține microorganismele (adesea același aparat folosit pentru numărare; vezi Figura 6.18, pagina 174). În balonul receptor se creează un vid; presiunea aerului forțează apoi lichidul prin filtru. Filtrarea este utilizată pentru sterilizarea materialelor sensibile la căldură, cum ar fi unele medii de cultură, enzime, vaccinuri și soluții de antibiotice.

Unele săli de operație și încăperi ocupate de pacienți cu arsuri primesc aer filtrat pentru a reduce numărul de microbi din aer. Filtrele de aer cu particule de înaltă eficiență (HEPA) îndepărtează aproape toate microorganismele mai mari de aproximativ 0,3 pm în diametru.

În primele zile ale microbiologiei, filtrele goale în formă de lumânare din porțelan nesmălțuit erau folosite pentru a filtra lichidele. Căile lungi și indirecte prin pereții filtrului au adsorbit bacteriile. Agenții patogeni nevăzuți care au trecut prin filtre (care provoacă boli precum rabia) au fost numiți viruși filtrabili. Vezi discuția despre filtrarea în tratarea modernă a apei la pagina 788.

În ultimii ani, filtrele cu membrană, compuse din substanțe precum esterii de celuloză sau polimerii plastici, au devenit populare pentru uz industrial și de laborator (Figura 7.4). Aceste filtre au doar 0,1 mm grosime. Porii filtrelor cu membrană includ, de exemplu, dimensiuni de 0,22-pm și 0,45-pm, care sunt destinate bacteriilor. Unele bacterii foarte flexibile, cum ar fi spirochetele sau micoplasma fără pereți, vor trece uneori prin astfel de filtre. Filtrele sunt disponibile cu pori mici de 0,01 pm, o dimensiune care va reține virușii și chiar unele molecule mari de proteine.

Temperaturi scăzute

Efectul temperaturilor scăzute asupra microorganismelor depinde de microbul particular și de intensitatea aplicării. De exemplu, la temperaturile frigiderelor obișnuite (0-7°C), rata metabolică a majorității microbilor este atât de redusă încât aceștia nu pot reproduce sau sintetiza toxine. Cu alte cuvinte, refrigerarea obișnuită are un efect bacteriostatic. Cu toate acestea, psicrotrofele cresc lent la temperaturile frigiderului și vor modifica aspectul și gustul alimentelor după un timp. De exemplu, un singur microb care se reproduce doar de trei ori pe zi ar ajunge la o populație de peste 2 milioane într-o săptămână. Bacteriile patogene, în general, nu vor crește la temperaturile frigiderului, ci pentru la

cel puțin o excepție importantă, vezi discuția despre listerioză din capitolul 22 (pagina 619).

În mod surprinzător, unele bacterii pot crește la temperaturi cu câteva grade sub zero. Majoritatea alimentelor rămân necongelate până la -2°C sau mai puțin. Temperaturile de subîngheț atinse rapid tind să facă microbii latenți, dar nu îi omoară neapărat. Înghețarea lentă este mai dăunătoare bacteriilor; cristalele de gheață care se formează și cresc perturbă structura celulară și moleculară a bacteriilor. Dezghețarea, fiind în mod inerent Bower, este de fapt partea mai dăunătoare a unui ciclu de îngheț-dezgheț. Odată înghețată, o treime din

populația unor bacterii vegetative ar putea supraviețui un an, în timp ce alte specii ar putea avea foarte puțini supraviețuitori după această perioadă. Mulți paraziți eucarioți, cum ar fi viermii rotunzi care provoacă trichineloza umană, sunt uciși de câteva zile de temperaturi de îngheț. Unele temperaturi importante asociate cu microorganismele și deteriorarea alimentelor sunt prezentate în Figura 6.2 (pagina 155).

Înaltă presiune

Presiunea ridicată aplicată suspensiilor lichide este transferată instantaneu și uniform în întreaga probă. Dacă presiunea este suficient de mare, modifică structurile moleculare ale proteinelor și carbohidraților, ducând la inactivarea rapidă a celulelor bacteriene vegetative. Endosporii sunt relativ rezistenți la presiune înaltă. Totuși, ele pot fi ucise prin alte tehnici, cum ar fi combinarea presiunii ridicate cu temperaturi ridicate sau prin cicluri de presiune alternante care provoacă germinarea sporilor, urmată de moartea cauzată de presiune a celulelor vegetative rezultate. Sucurile de fructe conservate prin tratamente de înaltă presiune au fost comercializate în Japonia și Statele Unite. Un avantaj este că aceste tratamente păstrează aromele, culorile și valorile nutritive ale produselor.

Uscarea

În absența apei, cunoscută sub numele de uscare, microorganismele nu pot crește sau se reproduc, dar pot rămâne viabile ani de zile. Apoi, când le este pusă la dispoziție apa, își pot relua creșterea și diviziunea. Acesta este principiul care stă la baza liofilizării, sau liofilizarea, un proces de laborator pentru conservarea microbilor descris în Capitolul 6 (pagina 168). Anumite alimente sunt, de asemenea, liofilizate (de exemplu, cafeaua și unii aditivi din fructe pentru cerealele uscate).

Rezistența celulelor vegetative la uscare variază în funcție de specie și de mediul organismului. De exemplu, bacteria gonoreei poate rezista la uscare doar aproximativ o oră, dar bacteria tuberculozei poate rămâne viabilă luni de zile. Virușii sunt în general rezistenți la uscare, dar nu sunt la fel de rezistenți ca endosporii bacterieni, dintre care unii au supraviețuit de secole. Această capacitate a anumitor microbi uscați și endospori de a rămâne viabile este importantă într-un cadru spitalicesc. Praful, îmbrăcămintea, așternuturile și pansamentele pot conține microbi infecțioși în mucus uscat, urină, puroi și fecale.

Presiunea osmotică

Utilizarea unor concentrații mari de săruri și zaharuri pentru conservarea alimentelor se bazează pe efectele presiunii osmotice. Concentrațiile mari ale acestor substanțe creează un mediu hipertonic care face ca apa să părăsească celula microbiană (vezi Figura 6.4, pagina 157). Acest proces seamănă cu conservarea prin uscare, prin aceea că ambele metode îi refuză celulei umiditatea de care are nevoie pentru creștere. Principiul presiunii osmotice este utilizat în conservarea alimentelor. De exemplu, soluțiile concentrate de sare sunt folosite pentru a vindeca cărnurile, iar soluțiile groase de zahăr sunt folosite pentru conservarea fructelor.

Ca regulă generală, mucegaiurile și drojdiile sunt mult mai capabile decât bacteriile să crească în materiale cu umiditate scăzută sau presiuni osmotice ridicate. Această proprietate a mucegaiurilor, uneori combinată cu capacitatea lor de a crește în condiții acide, este motivul pentru care mucegaiurile, mai degrabă decât bacteriile, provoacă alterarea fructelor și cerealelor. De asemenea, face parte din motivul pentru care mucegaiurile pot forma mucegai pe un perete umed sau pe o perdea de duș.

Radiația

Radiația are diferite efecte asupra celulelor, în funcție de lungimea de undă, intensitatea și durata acesteia. Radiația care ucide microorganismele (radiația de sterilizare) este de două tipuri: ionizantă și neionizantă.

Radiațiile ionizante – raze gamma, raze X sau fascicule de electroni de înaltă energie – au o lungime de undă mai scurtă decât cea a radiațiilor neionizante, mai mică de aproximativ 1 nm. Prin urmare, transportă mult mai multă energie (Figura 7.5). Razele gamma sunt emise de anumite elemente radioactive, cum ar fi cobaltul, iar fasciculele de electroni sunt produse prin accelerarea electronilor la energii mari în mașini speciale. Razele X, care sunt produse de mașini într-un mod similar cu producerea fasciculelor de electroni, sunt similare cu razele gamma. Razele gamma pătrund profund, dar pot necesita ore pentru a steriliza mase mari; fasciculele de electroni de înaltă energie au o putere de penetrare mult mai mică, dar de obicei necesită doar câteva secunde de expunere. Efectul principal al radiațiilor ionizante este ionizarea apei, care formează radicali hidroxil foarte reactivi (vezi discuția despre formele toxice ale oxigenului în capitolul 6, paginile 159-160). Acești radicali reacționează cu componentele organice celulare, în special cu ADN-ul.

Așa-numita teorie țintă a daunelor cauzate de radiații presupune că particulele ionizante sau pachetele de energie trec prin sau aproape de porțiuni vitale ale celulei; acestea constituie „hituri”. Una sau câteva lovituri pot provoca doar mutații neletale, unele dintre ele probabil utile. Mai multe lovituri sunt susceptibile de a provoca suficiente mutații pentru a ucide microbul.

Industria alimentară și-a reînnoit recent interesul pentru utilizarea radiațiilor pentru conservarea alimentelor (discutat mai pe larg în Capitolul 28). Radiațiile ionizante de nivel scăzut, folosite de ani de zile în multe țări, au fost aprobate în Statele Unite pentru prelucrarea condimentelor și a anumitor cărni și legume. Radiațiile ionizante, în special fasciculele de electroni de înaltă energie, sunt utilizate pentru sterilizarea produselor farmaceutice și a materialelor dentare și medicale de unică folosință, cum ar fi seringi de plastic, mănuși chirurgicale, suturi.

1 m

10-;

Figura 7.5 Spectrul de energie radiantă. Lumina vizibilă și alte forme de energie radiantă radiază prin spațiu ca unde de diferite lungimi. Radiațiile ionizante, cum ar fi razele gamma și razele X, au o lungime de undă mai mică de 1 nm. Radiația neionizantă, cum ar fi lumina ultravioletă (UV), are o lungime de undă între 1 nm și aproximativ 380 nm, unde începe spectrul vizibil.

Cum ar putea radiația UV crescută (din cauza scăderii stratului de ozon) să afecteze ecosistemele Pământului?

materiale și catetere. Ca protecție împotriva bioterorismului, serviciul poștal folosește adesea radiații cu fascicul de electroni pentru a steriliza anumite clase de corespondență.

Radiația neionizantă are o lungime de undă mai mare decât cea a radiației ionizante, de obicei mai mare de aproximativ 1 nm. Cel mai bun exemplu de radiație neionizantă este lumina ultravioletă (UV). Lumina UV dăunează ADN-ului celulelor expuse, determinând formarea de legături între bazele pirimidinice adiacente, de obicei timine, în lanțurile de ADN (vezi Figura 8.21, pagina 228). Acești dimeri de timină inhibă replicarea corectă a ADN-ului în timpul reproducerii celulei. Lungimile de undă UV cele mai eficiente pentru uciderea microorganismelor sunt de aproximativ 260 nm; aceste lungimi de undă sunt absorbite în mod specific de ADN-ul celular. Radiațiile UV sunt, de asemenea, folosite pentru a controla microbii din aer. O lampă UV, sau „germicidă", se găsește de obicei în camerele de spital, creșe, săli de operație și cantine. Lumina UV este folosită și pentru dezinfectarea vaccinurilor și a altor produse medicale. Un dezavantaj major al luminii UV ca dezinfectant este că radiația nu este foarte pătrunzătoare, astfel încât organismele care urmează să fie ucise trebuie să fie direct expuse razelor. Organismele protejate de solide și acoperiri precum hârtie, sticlă și textile nu sunt afectate. O altă problemă potențială este că lumina UV poate deteriora ochii oamenilor, iar expunerea prelungită poate provoca arsuri și cancer de piele la oameni.

Lumina soarelui conține unele radiații UV, dar lungimile de undă mai scurte - cele mai eficiente împotriva bacteriilor - sunt ecranate de stratul de ozon al atmosferei. Efectul antimicrobian al luminii solare se datorează aproape în întregime formării de oxigen singlet în citoplasmă (vezi capitolul 6, pagina 159). Mulți pigmenți produși de bacterii oferă protecție împotriva razelor solare.

Microundele nu au un efect direct prea mare asupra microorganismelor, iar bacteriile pot fi izolate cu ușurință din interiorul cuptoarelor cu microunde recent

operate. Alimentele care conțin umiditate sunt încălzite prin acțiunea microundelor, iar căldura va ucide majoritatea agenților patogeni vegetativi. Alimentele solide se încălzesc neuniform din cauza distribuției neuniforme a umidității. Din acest motiv, carnea de porc gătită în cuptorul cu microunde a fost responsabilă pentru focarele de trichineloză.

Tabelul 7.5 rezumă metodele fizice de control microbian.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum este prevenită creșterea microbiană în alimentele conservate? 7-4

De ce ar dura mai mult timp să se sterilizeze la o temperatură dată unei conserve de porc decât o cutie de supă care conținea și bucăți de carne de porc? 7-5

Care este legătura dintre efectul distrugător al radiațiilor și formele radicalilor hidroxil ale oxigenului? 7-6

Metode chimice de control microbian

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

7-7 Enumerați factorii legați de dezinfecția eficientă.

7-8 Interpretați rezultatele testelor de utilizare-diluare și metoda de difuzie pe disc.

să se precizeze metodele de acțiune și utilizările preferate ale dezinfectanților chimici.

Erentiază halogenii folosiți ca antiseptice de halogenii folosiți ca dezinfectanți. .

TABELUL 7 • 5 Metode fizice utilizate pentru controlul creșterii microbiene

Metode Mecanism de acțiune Comentariu

Căldură

1. Căldură umedă

7-11 Identificați utilizările adecvate pentru „agenții activi de suprafață”.

7-12 Enumerați avantajele glutaraldehidei față de alți dezinfectanți chimici.

7-13 Identificați sterilizatoarele chimice.

Agenții chimici sunt utilizați pentru a controla creșterea microbilor atât pe țesuturile vii, cât și pe obiectele neînsuflețite. Din păcate, puțini agenți chimici ating sterilitatea; cele mai multe dintre ele doar reduc populațiile microbiene la niveluri sigure sau elimină formele vegetative ale agenților patogeni din obiecte. O problemă comună în dezinfecție

este alegerea unui agent. Niciun dezinfectant nu este potrivit pentru toate circumstanțele.

Principiile dezinfectării eficiente

Citind eticheta, putem afla multe despre proprietatile unui dezinfectant. De obicei, eticheta indică împotriva căror grupuri de organisme este eficient dezinfectantul. Amintiți-vă că concentrația unui dezinfectant îi afectează acțiunea, așa că acesta trebuie întotdeauna diluat exact așa cum este specificat de producător.

Luați în considerare și natura materialului dezinfectat. De exemplu, sunt prezente materiale organice care ar putea interfera cu acțiunea dezinfectantului? În mod similar, pH-ul mediului are adesea un efect mare asupra activității unui dezinfectant.

Un alt aspect foarte important este dacă dezinfectantul va intra ușor în contact cu microbii. Este posibil ca o zonă să fie spălată și clătită înainte de aplicarea dezinfectantului. În general, dezinfecția este un proces gradual. Astfel, pentru a fi eficient, este posibil ca un dezinfectant să fie lăsat pe o suprafață timp de câteva ore.

Evaluarea unui dezinfectant

Teste de utilizare-diluare

Este necesar să se evalueze eficacitatea dezinfectanților și antisepticelor. Standardul actual este testul de utilizare-diluare al chimistului analitic oficial american. Cilindrii de metal sau de sticlă (8 mm x 10 mm) sunt scufundați în culturi standardizate ale bacteriilor de testat crescute în mediu lichid, îndepărtați și uscati la 37°C pentru o perioadă scurtă de timp. Culturile uscate sunt apoi plasate într-o soluție de dezinfectant la concentrația recomandată de producător și lăsate acolo timp de 10 minute la 20°C. După această expunere, cilindrii sunt transferați într-un mediu care permite creșterea oricăror bacterii supraviețuitoare, eficacitatea dezinfectantului putând fi apoi determinată de numărul de culturi care cresc.

Variațiile acestei metode sunt utilizate pentru testarea eficacității agenților antimicrobieni împotriva endosporilor, micobacteriilor care provoacă tuberculoză, viruși și ciuperci, deoarece sunt dificil de controlat cu substanțe chimice. De asemenea, testele cu antimicrobiene destinate unor scopuri speciale, cum ar fi dezinfectarea ustensilelor de lactate, pot înlocui alte bacterii de testare.

Metoda de difuzie pe disc

Metoda de difuzie pe disc este utilizată în laboratoarele de predare pentru a evalua eficacitatea unui agent chimic. Un disc de hârtie de filtru este înmuiat cu o substanță chimică și plasat pe o placă de agar care a fost în prealabil inoculată și incubată cu organismul de testat. După incubare, dacă substanța chimică este eficientă, în jurul discului poate fi observată o zonă clară care reprezintă inhibarea creșterii (Figura 7.6).

Discurile care conțin antibiotice sunt disponibile comercial și utilizate pentru a determina susceptibilitatea microbiană la antibiotice (vezi Figura 20.17, pagina 578).

Tipuri de dezinfectanți

Fenol și fenolici

Lister a fost primul care a folosit fenol (acid carbolic) pentru a controla infectiile chirurgicale in sala de operatie. Utilizarea sa a fost sugerată de eficiența sa în controlul mirosului în canalizarea. Acum este rar folosit ca antiseptic sau dezinfectant deoarece irită pielea și are un miros neplăcut. Este adesea folosit în pastile pentru gât pentru efectul său anestezic local, dar are un efect antimicrobian redus la concentrațiile scăzute utilizate. La concentrații de peste 1% (cum ar fi în unele spray-uri pentru gât), fenolul are un efect antibacterian semnificativ. Structura unei molecule de fenol este prezentată în Figura 7.7a.

Derivații fenolului, numiți fenolici, conțin o moleculă de fenol care a fost modificată chimic pentru a-i reduce calitățile iritante sau pentru a-și crește activitatea antibacteriană în combinație cu un săpun sau un detergent. Substanțele fenolice exercită activitate antimicrobiană prin rănirea membranelor plasmatice care conțin lipide, ceea ce duce la scurgerea conținutului celular. Peretele celular al micobacteriilor, cauzele tuberculozei și leprei, este bogat în lipide, ceea ce le face susceptibile la derivații fenol. O proprietate utilă a fenolicilor ca dezinfectanți este aceea că rămân activi în prezența compușilor organici, sunt stabili și persistă perioade lungi de timp după aplicare. Din aceste motive, substanțele fenolice sunt agenți adecvați pentru dezinfectarea puroiului, a salivei și a fecalelor.

Unul dintre cei mai des utilizați fenolici este derivat din gudronul de cărbune, un grup de substanțe chimice numite crezoluri. Un crezol foarte important este O-fenilfenolul (vezi Figura 7.6 și Figura 7.7b), ingredientul principal în majoritatea formulărilor de Lysol. Crezolurile sunt foarte bune dezinfectante de suprafata.

Bisfenoli

Bisfenolii sunt derivați ai fenolului care conțin două grupări fenolice legate printr-o punte (bis indică două). Un bisfenol, hexachiorofen (Figura 7.6 și Figura 7.7c), este un ingredient al unei loțiuni prescrise, pHisoHex, utilizată pentru procedurile chirurgicale și de control microbian din spital. Stafilococii și streptococii gram-pozitivi, care pot provoca infecții cutanate la nou-născuți, sunt pa icular susceptibili la hexaclorofen, de aceea este adesea folosit') con.rol astfel de infecții în creșe. Cu toate acestea, utilizarea excesivă a acestui

bisfenol, cum ar fi îmbăierea sugarilor cu el de mai multe ori pe zi, poate duce la leziuni neurologice.

Un alt bisfenol utilizat pe scară largă este triclosanul (Figura 7.7d), un ingredient în săpunurile antibacteriene și cel puțin o pastă de dinți. Triclosanul a fost chiar încorporat în plăcile de tăiat de bucătărie și mânerele cuțitelor și alte ustensile de bucătărie din plastic. Utilizarea sa este acum atât de răspândită încât bacteriile rezistente au fost în r. s-au portat și au fost ridicate preocupări cu privire la efectul său asupra rezistenței microbilor la anumite antibiotice. Triclosanul inhibă o enzimă necesară pentru biosinteza acizilor grași (lipide), care afectează în principal integritatea membranei plasmatice. Este eficient mai ales împotriva bacteriilor gram-pozitive dar și

funcționează bine împotriva drojdiilor și bacteriilor gram-negative. Există anumite excepții, cum ar fi Pseudomonas aeruginosa, o bacterie gramnegativă care este foarte rezistentă la triclosan, precum și la multe alte antibiotice și dezinfectanți (vezi discuțiile de la paginile 307, 415 și 596).

Biguanide

Biguanidele au un spectru larg de activitate, cu un mod de acțiune care afectează în primul rând membranele celulare bacteriene. Sunt deosebit de eficiente împotriva bacteriilor gram-pozitive. Biguanidele sunt, de asemenea, eficiente împotriva bacteriilor gram-negative, cu excepția semnificativă a majorității pseudomonadelor. Biguanidele nu sunt sporicide, dar au o anumită activitate împotriva virusurilor încapsulate. Cea mai cunoscută biguanidă este clorhexidina, care este frecvent utilizată pentru controlul microbian pe piele și pe membranele mucoase. Combinată cu un detergent sau alcool, clorhexidina este foarte des folosită pentru exfolierea chirurgicală a mâinilor și pregătirea preoperatorie a pielii la pacienți. Alexidina este o biguanidă similară și are acțiune mai rapidă decât clorhexidina. În cele din urmă, alexidina este de așteptat să înlocuiască Betadine în multe aplicații, vezi mai jos.

Halogeni

Halogenii, în special iodul și clorul, sunt agenți antimicrobieni eficienți, atât singuri, cât și ca constituenți ai compușilor anorganici sau organici. Iodul (I2) este unul dintre cele mai vechi și mai eficiente antiseptice. Este activ împotriva tuturor tipurilor de bacterii, a multor endospori, a diferitelor ciuperci și a unor viruși. Iodul afectează sinteza proteinelor și alterează membranele celulare, aparent prin formarea de complexe cu aminoacizi și acizi grași nesaturați.

Iodul este disponibil sub formă de tinctură - adică în soluție în alcool apos - și ca iodofor. Un iodofor este o combinație de iod și o moleculă organică, din care iodul este eliberat lent. Iodoforii au activitate antimicrobiană a iodului, dar nu se pătează și sunt mai puțin iritanti. Cel mai comun

feOl Unele pastile destinate ameliorării simptomelor durerii în gât conțin fenol. De ce să includeți acest ingredient?

Acțiunea biocidă a diferitelor concentrații de etanol în soluție apoasă împotriva

TABELUL 7.6 Streptococcus pyogenes

Nota:

G - creștere

NG = fără creștere

preparatul comercial este Betadine, care este o povidonă-iodă. Povidona este un iodofor activ de suprafață care îmbunătățește acțiunea de umectare și servește ca rezervor de iod liber. Iodul este folosit în principal pentru dezinfecția pielii și tratarea rănilor. Mulți campani sunt familiarizați cu utilizarea iodului pentru tratarea apei.

Clorul (Cl2), ca gaz sau în combinație cu alte substanțe chimice, este un alt dezinfectant utilizat pe scară largă. Acțiunea sa germicidă este cauzată de acidul hipocloros (HOC1) care se formează atunci când se adaugă clorul în apă: (1)

Cl2 + H2O H+ + Cl- Clor Apa Ion clorhidric

(2)

H0C1 H+ + OC1-

Hipoclorit de hidrogen hipocloros

ion de acid

Acidul hipocloros este un agent oxidant puternic care împiedică funcționarea unei mari părți a sistemului enzimatic celular. Acidul hipocloros este cea mai eficientă formă de clor, deoarece este neutru în sarcină electrică și difuzează la fel de rapid ca apa prin peretele celular. Din cauza sarcinii sale negative, ionul de hipoclorit (OC1) nu poate intra liber în celulă.

O formă lichidă de clor gazos comprimat este utilizată pe scară largă pentru dezinfectarea apei potabile municipale, a apei din piscine și a apelor uzate. Mai mulți compuși ai clorului sunt, de asemenea, dezinfectanți eficienți. De exemplu, soluțiile de hipoclorit de calciu [Ca(OCl)2] sunt folosite pentru a dezinfecta echipamentele pentru produse lactate și ustensilele de mâncare pentru restaurante. Acest compus, numit cândva clorură de var, a fost folosit încă din 1825, cu mult înainte de conceptul unei teorii a germenilor pentru boală, pentru a înmuia pansamentele de spital în spitalele din Paris. A fost, de asemenea,

dezinfectantul folosit în anii 1840 de Semmelweis pentru a controla infecțiile spitalicești în timpul copilăriei, așa cum se menționează în capitolul 1, pagina 11. Un alt compus de clor, hipocloritul de sodiu (NaOCl; vezi Figura 7.6), este folosit ca dezinfectant de uz casnic și înălbitor (Clorox, dezinfectant, unități alimentare și produse alimentare). și sisteme de hemodializă. Atunci când calitatea apei potabile este în discuție, înălbitorul de uz casnic poate oferi un echivalent aproximativ al clorării municipale. După ce două picături de înălbitor sunt adăugate la un litru de apă (patru picături dacă apa este tulbure) și amestecul a rămas timp de 30 de minute, apa este considerată sigură pentru băut în condiții de urgență.

Industria de prelucrare a alimentelor folosește pe scară largă soluția de dioxid de clor ca dezinfectant de suprafață deoarece nu lasă gusturi sau mirosuri reziduale. Ca dezinfectant, are un spectru larg de activitate împotriva bacteriilor și virușilor și la concentrații mari este chiar eficient împotriva chisturilor și endosporilor. La concentrații scăzute, dioxidul de clor poate fi folosit ca antiseptic. (De asemenea, vezi pagina 198 pentru utilizarea dioxidului de clor ca sterilant și dezinfectant.)

Un grup important de compuși ai clorului sunt cloraminele, combinații de clor și amoniac. Majoritatea sistemelor municipale de tratare a apei amestecă amoniacul cu clorul pentru a forma cloramine. (Cloraminele sunt toxice pentru peștii de acvariu, dar magazinele de animale vând substanțe chimice pentru a le neutraliza.) Forțelor militare americane de pe teren li se eliberează tablete (Chlor-Floc) care conțin dicloroizocianurat de sodiu, o cloramină combinată cu un agent care floculează (coagulează) materialele în suspensie într-o probă de apă, limpezându-le pentru a elimina apa. Cloraminele sunt, de asemenea, folosite pentru a igieniza sticlăria și ustensilele de mâncare și pentru a trata echipamentele de producție a produselor lactate și a alimentelor. Sunt compuși relativ stabili care eliberează clor pe perioade lungi. Cloraminele sunt relativ eficiente în materia organică, dar au dezavantajele de a acționa mai lent și de a fi mai puțin eficiente decât hipocloritul.

Alcoolii

Un co omoară eficient bacteriile și ciupercile, dar nu endosporii și virușii neînveliți. Mecanismul de acțiune al alcoolului este de obicei denaturarea proteinelor, dar alcoolul poate, de asemenea, perturba membranele și dizolva multe lipide, inclusiv componenta lipidică a virusurilor envelopec. Alcoolii au avantajul de a acționa și apoi de a se evapora rapid și de a nu lăsa reziduuri. Când pielea este tamponată (degermata) înainte de o injecție, cea mai mare parte microbiană. activitatea de control provine din simpla ștergere a murdăriei și a microorganismelor, împreună cu uleiurile de pe piele. Cu toate acestea, alcoolii sunt antiseptice nesatisfăcătoare atunci când sunt aplicați pe răni. Ele provoacă coagularea unui strat de proteine sub care bacteriile continuă să crească.

Doi dintre cei mai des utilizați alcooli sunt etanolul și izoptopanolul. ihe recomandat optim.concentrație de etanol

este de 70%, dar concentrațiile între 60% și 95% par să omoare și ele (Tabelul 7.6). Etanolul pur este mai puțin eficient decât soluțiile apoase (etanol amestecat cu apă), deoarece denaturarea necesită apă. Izopropanolul, adesea vândut ca alcool pentru frecare, este ușor superior etanolului ca antiseptic și dezinfectant. Mai mult, este mai puțin volatil, mai puțin costisitor și mai ușor de obținut decât etanolul.

Spălarea mâinilor cu apă și săpun este o metodă eficientă de igienizare. Folosiți săpun și apă caldă (dacă este posibil) și frecați mâinile timp de 20 de secunde (imaginați-vă cântând „La mulți ani" de două ori). Apoi clătiți, uscați cu un prosop de hârtie sau uscător de aer și încercați să utilizați un prosop de hârtie pentru a închide robinetul. Dezinfectantele pentru mâini pe bază de alcool (aproximativ 62% alcool) precum Purell și Germ-X sunt foarte populare pentru utilizare atunci când mâinile nu sunt murdare vizibil. Frecați produsul pe suprafața mâinilor și a degetelor până când acestea sunt uscate. Afirmațiile conform cărora produsele vor ucide 99,9% dintre microbi ar trebui privite cu prudență; o astfel de eficiență este rareori atinsă în condițiile tipice ale utilizatorului. De asemenea, anumiți agenți patogeni, cum ar fi Clostridium difficile care formează spori și virușii cărora le lipsește un înveliș lipidic, sunt comparativ rezistenți la dezinfectanții de mâini pe bază de alcool.

Etanolul și izopropanolul sunt adesea folosite pentru a spori eficacitatea altor agenți chimici. De exemplu, o soluție apoasă de Zephiran (descrisă la pagina 196) ucide aproximativ 40% din populația unui organism de testat în 2 minute, în timp ce o tinctură de Zephiran ucide aproximativ 85% în aceeași perioadă. Pentru a compara eficacitatea tincturilor și a soluțiilor apoase, vezi Figura 7.10 la pagina 196.

Metalele grele și compușii lor

Mai multe metale grele pot fi biocide sau antiseptice, inclusiv argintul, mercurul și cuprul. Capacitatea unor cantități foarte mici de metale grele, în special argint și cupru, de a exercita activitate antimicrobiană este denumită acțiune oligodinamică (oligo înseamnă puține). Cu secole în urmă, egiptenii au descoperit că punerea monedelor de argint în butoaie de apă a servit pentru a menține apa curată de creșterile organice nedorite. Această acțiune poate fi observată atunci când plasăm o monedă sau altă bucată curată de metal care conține argint sau cupru pe o cultură pe o placă Petri inoculată. Cantități extrem de mici de metal difuzează din monedă și inhibă creșterea bacteriilor pe o anumită distanță în jurul monedei (Figura 7.&). Acest efect este produs de acțiunea ionilor de metale grele asupra microbilor. Când ionii metalici se combină cu grupările sulfhidril de pe proteinele celulare, rezultă denaturarea.

Argintul este folosit ca antiseptic într-o soluție de azotat de argint 1%. La un moment dat, multe state impuneau ca ochii nou-născuților să fie tratați cu câteva picături de nitrat de argint pentru a se proteja de o infecție a ochilor numită ophthalmia neonatorum, pe care bebelușii s-ar fi putut contracta în timp ce treceau prin canalul de naștere. În ultimii ani, antibioticele au înlocuit azotatul de argint în acest scop.

Recent, a existat un interes reînnoit pentru utilizarea argintului ca agent antimicrobian. Pansamentele impregnate cu argint care eliberează lent ioni de argint s-au dovedit deosebit de utile împotriva bacteriilor rezistente la antibiotice, entuziasmul pentru încorporarea argintului în toate tipurile de produse de consum este în creștere. Printre produsele mai noi vândute se numără recipientele din plastic pentru alimente

Figura 7.8 Acțiunea oligodinamică a metalelor grele. Zonele clare în care creșterea bacteriană a fost inhibată sunt văzute în jurul farmecului sombrero (împins la o parte), a banului și a banului. Farmecul și banul conțin argint; banul conține cupru.

Monedele folosite în această demonstrație au fost bătute cu mulți ani în urmă; de ce nu au fost folosite monede mai contemporane?

infuzat cu nanoparticule de argint, care sunt menite să păstreze alimentele mai proaspete, și cu cămăși și șosete de atletism infuzate cu argint, despre care se spune că reduc mirosurile.

O combinație de argint și medicamentul sulfadiazină, silversulfadiazine, este cea mai comună formulare. Este disponibilă ca o cremă topică pentru utilizare pe arsuri. Argintul poate fi, de asemenea, încorporat în cateterele permanente, care sunt o sursă obișnuită de infecții spitalicești, și în pansamentele pentru plăgi. Surfacine este un antimicrobian relativ nou pentru aplicare pe suprafețe, fie animate, fie neînsuflețite. Conține iodură de argint insolubilă în apă într-un purtător polimeric și este foarte persistent, durează cel puțin 13 zile. Când o bacterie intră în contact cu suprafața, membrana exterioară a celulei este recunoscută și o cantitate letală de ioni de argint este eliberată.

Compușii anorganici de mercur, cum ar fi clorura de mercur, au o istorie lungă de utilizare ca dezinfectanți. Au un spectru foarte larg de activitate; efectul lor este în primul rând bacteriostatic. Cu toate acestea, utilizarea lor este acum limitată din cauza toxicității, corozivității și ineficacității lor în materia organică. În prezent, utilizarea principală a mercurialilor este controlul mucegaiului din vopsele.

Cuprul sub formă de sulfat de cupru sau alți aditivi care conțin cupru este folosit în principal pentru a distruge algele verzi (algicide) care cresc în rezervoare, iazuri de stocare, piscine și bazine de pești. Dacă apa nu conține substanță organică în exces, compușii de cupru sunt eficienți în concentrații de o parte per milion de apă. Pentru a preveni mucegaiul, compușii de cupru precum 8-hidroxichinolina de cupru sunt uneori incluși în vopsea. În secolul al XIX-lea, regiunile viticole din Europa erau afectate de boli fungice care afectau vița de vie.

H

I
H-N+-H

eu

H

Figura 7.9 Ionul de amoniu și un compus de amoniu cuaternar, clorură de benzalconiu (Zephiran). Observați cum alte grupuri înlocuiesc hidrogenii ionului de amoniu.

Sunt quat-urile cele mai eficiente împotriva bacteriilor gram-pozitive sau gram-negative?

S-a observat că viile din apropierea drumului au fost mai puțin afectate decât cele mai îndepărtate. Motivul a fost că aceste vițe de pe marginea drumului fuseseră stropite cu un amestec de sulfat de cupru și var (atât vizibil, cât și amar la gust) pentru a descuraja trecătorii de pe drum să mănânce strugurii. Din cauza acestei observații întâmplătoare, amestecurile pe bază de ioni de cupru (cunoscute sub numele de amestec Bordeaux) au fost folosite de multă vreme pentru a controla bolile fungice ale plantelor.

Utilizarea pe termen lung a dezinfectanților pentru mâini pe bază de alcool cauzează adesea probleme cu uscarea pielii. Un dezinfectant pentru mâini relativ nou, Xgel, nu conține alcool, dar folosește cupru conținut într-o formulă de loțiune pentru piele. Xgel poate fi mai eficient ca antimicrobian decât dezinfectantele pentru mâini pe bază de alcool.

Un alt metal folosit ca antimicrobian este zincul. Efectul urmelor de zinc poate fi observat pe acoperișurile deteriorate ale clădirilor aflate în josul pantei de la fitingurile galvanizate (acoperite cu zinc). Acoperișul este de culoare mai deschisă, acolo unde creșterea biologică, mai ales alge, este împiedicată. Sunt disponibile șindrilă tratată cu cupru și zinc. Clorura de zinc este un ingredient comun în apă de gură, iar piritiona de zinc este un ingredient în șampoanele antimătreață.

Agenți activi de suprafață

Agenții activi de suprafață sau agenții tensioactivi pot scădea tensiunea superficială dintre moleculele unui lichid. Astfel de agenți includ săpunuri și detergenți.

Săpunuri și detergenți Săpunul are o valoare mică ca antiseptic, dar are o funcție importantă în îndepărtarea mecanică a microbilor prin spălare. Pielea conține în mod normal celule moarte, praf, transpirație uscată, microbi și secreții uleioase din glandele sebace. Săpunul sparge pelicula uleioasă în picături minuscule, un proces numit emulsionare, iar apa și săpunul împreună ridică uleiul emulsionat și resturile și le îndepărtează pe măsură ce spuma este spălată. În acest sens, săpunurile sunt buni agenți de degerminare.

Dezinfectante acido-anionice Dezinfectantele acido-anionice de suprafață sunt foarte importante în curățarea ustensilelor și echipamentelor pentru produse lactate. Capacitatea lor de igienizare este legată de porțiunea încărcată negativ (anionul) a moleculei, care reacționează cu membrana plasmatică. Acești dezinfectanți, care acționează asupra unui spectru larg de microbi, inclusiv bacterii termodurice supărătoare, sunt netoxice, necorozive și cu acțiune rapidă.

De ce este tinctura de Zephiran mai eficientă decât soluția apoasă?

Compuși cuaternari de amoniu (Quats) Cei mai folosiți agenți tensioactivi sunt detergenții cationici, în special compușii cuaternari de amoniu (quats). Capacitatea lor de curățare este legată de porțiunea încărcată pozitiv - cationul - a moleculei. Numele lor este derivat din faptul că sunt modificări ale ionului de amoniu cu patru valențe, NH4+ (Figura 7.9). Compușii cuaternari de amoniu sunt puternic bactericide împotriva bacteriilor gram-pozitive și mai puțin activi împotriva bacteriilor gram-negative (vezi Figura 7.6).

.)uats sunt, de asemenea, fungicide, amebicide și virucide împotriva virusurilor încapsulate. Nu ucid endosporii sau micobacteriile. (Vezi caseta de la pagina 198.) Modul lor chimic de acțiune este necunoscut, dar probabil afectează membrana plasmatică. Ele modifică permeabilitatea celulei și provoacă pierderea constituenților citoplasmatici esențiali, cum ar fi potasiul.

Două quat populare sunt Zephiran, un nume de marcă pentru clorură de benzalconiu (vezi Hgura 7.9) și Cepacol, un nume de marcă pentru clorură de cetilpiridiniu. Sunt puternic antimicrobiene, incolore, inodore, fără gust, stabile, ușor de diluat și netoxice, cu excepția: la concentrații mari. Dacă sticla de apă de gură se umple cu spumă atunci când este agitată, apa de gură conține probabil un quat. Cu toate acestea, materia organică interferează cu activitatea lor și sunt neutralizate rapid de săpunuri și detergenți anionici.

Oricine este implicat în aplicațiile medicale ale quat-urilor ar trebui să-și amintească că anumite bacterii, cum ar fi unele specii de Pseudomonas, supraviețuiesc nu numai în compuși cuaternari de amoniu, dar

cresc activ în ele. Acești microbi sunt rezistenți nu numai la soluția dezinfectantă, ci și la tifon și pansamente umezite cu aceasta, deoarece libers tind să neutralizeze quat-urile.

Înainte de a trece la următorul grup de agenți chimici, consultați Figura 7.10, care compară eficacitatea unora dintre antisepticele pe care le-am discutat până acum.

Conservanți chimici pentru alimente

Conservanții chimici sunt adăugați frecvent în alimente pentru a întârzia alterarea, dioxidul de sulf (SO 2) a fost folosit de mult timp ca dezinfectant, în special în vinificație. Odiseea lui Homer, scrisă cu aproape 2800 de ani în urmă, menționează utilizarea sa. Printre aditivii mai des întâlniți se numără benzoatul de sodiu, acidul sorbic și propionatul de calciu. Aceste substanțe chimice sunt acizi organici simpli, sau săruri ale acizilor organici, pe care organismul le metabolizează cu ușurință și care sunt, în general, considerate a fi sigure în alimente. Acidul sorbic, sau sarea sa mai solubilă sorbat de potasiu și benzoatul de sodiu împiedică dezvoltarea mucegaiurilor în anumite alimente acide, cum ar fi brânza și băuturile răcoritoare. Astfel de alimente, de obicei cu un pH de 5,5 sau mai mic, sunt cele mai susceptibile la deteriorarea de către mucegaiuri. Propionatul de calciu, un fungistat eficient folosit în pâine, previne creșterea mucegaiurilor de suprafață și a bacteriei Bacillus

care provoacă pâinea ropy. Acești acizi organici inhibă creșterea mucegaiului, nu prin afectarea pH-ului, ci prin interferarea cu metabolismul mucegaiului sau cu integritatea membranei plasmatice.

Nitratul de sodiu și nitritul de sodiu sunt adăugați la multe produse din carne, cum ar fi șunca, slănină, hot-dogs și cârnați. Ingredientul activ este nitritul de sodiu, pe care anumite bacterii din carne îl pot produce și din nitrat de sodiu. Aceste bacterii folosesc nitratul ca înlocuitor al oxigenului în condiții anaerobe. Nitritul are două funcții principale: să păstreze culoarea roșie plăcută a cărnii prin reacția cu componentele sanguine din carne și să prevină germinarea și creșterea oricăror endospori de botulism care ar putea fi prezenți. Nitritul inhibă selectiv anumite enzime ale Clostridium botulinum care conțin fier. A existat o oarecare îngrijorare, că reacția nitriților cu aminoacizii poate forma anumite produse cancerigene cunoscute sub numele de nitrozamine, iar cantitatea de nitriți adăugate alimentelor a fost în general redusă recent din acest motiv. Cu toate acestea, utilizarea nitriților continuă datorită valorii lor stabilite în prevenirea botulismului. Deoarece nitrozaminele se formează în organism din alte surse, riscul suplimentar prezentat de utilizarea limitată a nitraților și nitriților în carne este mai mic decât se credea cândva.

Antibiotice

Antimicrobienele discutate în acest capitol nu sunt utile pentru ingerare sau injectare pentru tratarea bolilor. Antibioticele sunt folosite în acest scop. „Utilizarea antibioticelor este foarte restrânsă; totuși, cel puțin două au o utilizare considerabilă în conservarea alimentelor. Nici unul nu este de valoare pentru scopuri clinice. Nisina este adesea adăugată în brânză pentru a inhiba creșterea anumitor bacterii de alterare care formează endospori. Este un exemplu de bacteriocină, o proteină care este produsă de o bacterie și inhibă alta (vezi capitolul 8, pagina 235). Nisina este prezentă în mod natural în cantități mici în multe produse lactate. Este fără gust, ușor digerat și netoxic. Natamicina (pimaricina) este un antibiotic antifungic aprobat pentru utilizare în alimente, în special în brânză.

Aldehide

Aldehidele sunt printre cele mai eficiente antimicrobiene. Două exemple sunt formaldehida și glutaraldehida. Ele inactivează proteinele prin formarea de legături încrucișate covalente cu mai multe grupări funcționale organice pe proteine (—NH2, —OH, —COOH și —SH). Formaldehida gazoasă este un dezinfectant excelent. Cu toate acestea, este mai frecvent disponibil ca formol, o soluție apoasă de 37% de formaldehidă gazoasă. Formalina a fost odată folosită pe scară largă pentru a conserva specimenele biologice și pentru a inactiva bacteriile și virușii din vaccinuri.

Glutaraldehida este o rudă chimică a formaldehidei, care este mai puțin iritantă și mai eficientă decât formaldehida. Glutaraldehida este folosită pentru a dezinfecta instrumentele spitalicești, inclusiv endoscoapele și echipamentele de terapie respiratorie, dar acestea trebuie curățate cu atenție mai întâi. Când este utilizat într-o soluție de 2% (Cidex), este bactericid, tuberculocid și virucid în 10 minute și sporicid în 3 până la 10 ore. Glutaraldehida este unul

dintre puținii dezinfectanți chimici lichizi care pot fi considerați un agent de sterilizare. Cu toate acestea, 30 de minute este adesea considerat timpul maxim permis pentru ca un sporicid să acționeze, care este un criteriu pe care glutaraldehida nu îl poate îndeplini. Atât glutaraldehida, cât și formalina sunt folosite de morțiști pentru îmbălsămare.

Un posibil înlocuitor al glutaraldehidei pentru multe utilizări este orto-ftalaldehida (OPA), care este mai eficientă împotriva multor microbi și are mai puține proprietăți iritante.

Caz clinic

Norovirusul, un virus neînvelit, este una dintre cauzele gastroenteritei acute. Se poate răspândi prin consumul de alimente sau apă contaminate cu fecale, prin contact direct cu o persoană infectată sau prin atingerea unei suprafețe contaminate. Amy poate exclude imediat transmiterea prin alimente. Mica școală privată nu are program de prânz școlar; toți studenții și personalul își aduc prânzul de acasă. După întâlnirea cu directorul, Amy vorbește cu personalul de custodie și îi îndrumă să folosească un quat pentru a curăța școala. Ea le cere să acorde o atenție deosebită zonelor cu potențial ridicat de contaminare cu fecale, în special scaunele de toaletă, mânerele de spălare, mânerele interioare ale ușilor de la toaletă și mânerele interioare ale ușilor de la toaletă. Amy este sigură că a evitat un focar major, dar până vineri, 42 de studenți și încă șase membri ai personalului sună pentru a raporta simptome similare.

De ce nu a funcționat quat-ul pentru a ucide virusul?

197

Sterilizare chimică

Sterilizarea cu substanțe chimice lichide este posibilă, dar chiar și substanțele chimice sporicide, cum ar fi glutaraldehida, nu sunt considerate de obicei sterilizante practice. Cu toate acestea, chimiosterilanții gazoși sunt frecvent utilizați ca înlocuitori pentru procesele fizice de sterilizare. Aplicarea lor necesită o cameră închisă similară cu o autoclavă cu abur. Probabil cel mai familiar exemplu este oxidul de etilenă:

H2C—CH2

O

Activitatea sa depinde de alchilare, adică de înlocuirea atomilor de hidrogen labili ai proteinelor într-o grupare chimică (cum ar fi —SH, —COOH sau —CH2CH2OH) cu un radical chimic. Acest lucru duce la legarea încrucișată a acizilor nucleici și proteinelor și inhibă funcțiile celulare vitale. Oxidul de etilenă ucide toți microbii și endosporii, dar necesită o perioadă lungă de expunere de câteva ore. Este toxic și exploziv în forma sa pură, deci este de obicei amestecat cu un gaz neinflamabil, cum ar fi dioxidul de carbon. Printre avantajele sale este ca efectueaza sterilizarea la temperatura ambianta si este foarte penetrant. Spitalele mai mari sunt adesea capabile să sterilizeze chiar și saltele în sterilizatoare speciale cu oxid de etilenă.

Dioxidul de clor este un gaz de scurtă durată care este de obicei fabricat la locul de utilizare. În special, a fost folosit pentru a fumiga zonele închise de clădiri contaminate cu endospori de antrax. Este mult mai stabil în soluție apoasă. Utilizarea sa cea mai obișnuită este în tratarea apei înainte de clorinare, unde scopul său este de a îndepărta sau de a reduce formarea anumitor compuși cancerigeni formați uneori în clorurarea apei.

Plasme

n în plus față de cele trei stări tradiționale ale materiei — lichid, gaz, <md s*'1 . Aici se poate considera că există o a patra stare a materiei, plasma. Plasma este o stare a materiei în care un gaz este excitat, în acest caz de un câmp electromagnetic, pentru a face un amestec de nuclee cu sarcini electrice asortate și electroni liberi. Unitățile de îngrijire a sănătății se confruntă din ce în ce mai mult cu provocarea sterilizării instrumentelor chirurgicale din metal sau plastic utilizate pentru multe proceduri mai noi în chirurgia artroscopică sau laparoscopică. Astfel de dispozitive au tuburi lungi, goale, multe cu un diametru interior de doar câțiva milimetri și sunt greu de sterilizat. Sterilizarea Pfosmu este a

metodă fiabilă pentru aceasta. Instrumentele sunt plasate într-un recipient în care o combinație de vid, câmp electromagnetic și substanțe chimice precum peroxidul de hidrogen (uneori și acid peracetic) formează plasma. Astfel de plasme au mulți radicali liberi care distrug rapid chiar și microbii care formează endospori. Avantajul sterilizării cu plasmă, care are elemente de sterilizare atât fizică, cât și chimică, este că necesită doar temperaturi scăzute, dar este relativ costisitoare.

Fluide supercritice

Utilizarea fluidelor supercritice în sterilizare combină metode chimice și fizice. Când dioxidul de carbon este comprimat într-o stare „supercritică”, are proprietăți atât de lichid (cu solubilitate crescută) cât și de gaz (cu o tensiune superficială scăzută). Organismele expuse la dioxid de carbon supercritic sunt inactivate, inclusiv majoritatea organismelor vegetative care provoacă alterarea și agenții patogeni de origine alimentară. Chiar și inactivarea endosporilor necesită o temperatură de numai aproximativ 45°C. Folosit de câțiva ani în tratarea anumitor alimente, dioxidul de carbon supercritic a fost folosit mai recent pentru a decontamina implanturi medicale, cum ar fi oasele, tendoanele sau ligamentele prelevate de la pacienții donatori.

Peroxigeni și alte forme de oxigen

Peroxigenii sunt un grup de agenți oxidanți care include peroxid de hidrogen și acid peracetic.

Peroxidul de hidrogen este un antiseptic care se găsește în multe cabinete de medicină de uz casnic și în camerele de aprovizionare din spitale. Nu este un bun antiseptic pentru răni deschise. Este rapid descompusă în apă și oxigen gazos prin acțiunea enzimei catalaze, care este prezentă în celulele umane (vezi capitolul 6, pagina 160). Cu toate acestea, peroxidul de hidrogen dezinfectează eficient obiectele neînsuflețite; în astfel de aplicații, este chiar

sporicid la concentrații mari. Pe o suprafață nevii, enzimele protectoare în mod normal ale bacteriilor aerobe și anaerobilor facultativi sunt copleșite de concentrații mari de peroxid. Datorită acestor factori și a degradării rapide în apă și oxigen inofensiv, industria alimentară crește utilizarea peroxidului de hidrogen pentru ambalarea aseptică (vezi Figura 28.4 la pagina 802). Materialul de ambalare trece printr-o soluție fierbinte de substanță chimică înainte de a fi asamblat într-un recipient. În plus, mulți purtători de lentile de contact sunt familiarizați cu utilizarea peroxidului de hidrogen ca dezinfectant. După ce lentila este dezinfectată, un catalizator de platină din trusa de dezinfectare a lentilelor distruge peroxidul de hidrogen rezidual, astfel încât să nu persistă pe lentilă, unde ar putea provoca iritații oculare.

Peroxidul de hidrogen gazos încălzit poate fi utilizat ca agent de sterilizare a atmosferei și a suprafețelor. Camerele de spital, de exemplu, pot fi decontaminate rapid și de rutină cu echipamente disponibile sub marca Bioquell. Camera este etanșată cu aparatul generator în interior și comenzile în exterior. Odată ce camera etanșă a suferit un ciclu de decontaminare, vaporii de peroxid de hidrogen sunt transformați catalitic în vapori de apă și oxigen.

Acidul peracetic (acid peroxiactic sau PAA) este unul dintre cele mai eficiente sporicide chimice lichide disponibile și poate fi folosit ca sterilizant. Modul său de acțiune este similar cu cel al peroxidului de hidrogen. În general, este eficient asupra endosporilor și virușilor în 30 de minute și ucide bacteriile și ciupercile vegetative în mai puțin de 5 minute. PAA are multe aplicații în dezinfecția echipamentelor de prelucrare a alimentelor și a echipamentelor medicale, în special a endoscoapelor, deoarece nu lasă reziduuri toxice (doar apă și cantități mici de acid acetic) și este minim afectată de prezența materiei organice. FDA a aprobat utilizarea PAA pentru spălarea fructelor și legumelor.

Alți agenți oxidanți includ peroxidul de benzoil, care este probabil cel mai familiar ca ingredient principal în medicamentele fără prescripție medicală pentru acnee. Ozonul (0$) este o formă foarte reactivă de oxigen care este generată prin trecerea oxigenului prin descărcări electrice de înaltă tensiune (vezi Figura 27.16, pagina 789). Este responsabil pentru mirosul destul de proaspăt al aerului după o furtună cu fulgere, în apropierea scânteilor electrice sau în jurul unei lumini ultraviolete. Ozonul este adesea folosit pentru a suplimenta clorul în dezinfectarea apei, deoarece ajută la neutralizarea gusturilor și mirosurilor. Deși ozonul este un agent de distrugere mai eficient decât clorul, activitatea sa reziduală este dificil de menținut în apă.

Caz clinic

Quat-urile sunt virucide împotriva virușilor înveliți. Până luni, un total de 103 din 266 de angajați și studenți sună bolnavi cu vărsături și diaree. Cu aproape jumătate din școală fie bolnavă, fie revenind la școală după ce a fost bolnavă, Amy decide să sune Departamentul de Sănătate de Stat din Maryland. După ce a trecut peste evidențele sale cu un statistician al departamentului de sănătate, ea află că cei mai importanți factori de risc pentru infecție sunt contactul cu o persoană bolnavă sau a fi în clasa I. Toți, cu excepția celor cinci elevi de

clasa întâi, au raportat că sunt bolnavi de boală diareică. Deoarece școala este atât de mică, clasa întâi găzduiește și laboratorul de calculatoare pentru școală. Atât studenții, cât și personalul împart aceste computere. Departamentul de sănătate trimite pe cineva să tamponeze clasa de clasa întâi, iar norovirusul este cultivat de pe un mouse de computer.

Cum a ajuns virusul de la un mouse de calculator din clasa întâi la toate celelalte clase și personal?

199

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Dacă ați vrut să dezinfectați o suprafață contaminată cu vărsături și o suprafață contaminată cu un strănut, de ce ar face diferența alegerea dvs. de dezinfectant? 7-7

Care este mai probabil să fie utilizat într-un laborator de clinică medicală, un test de utilizare-diluare sau un test de difuzie pe disc? 7-8

De ce este eficient alcoolul împotriva unor viruși și nu împotriva altora? 7-9 Este Betadine un antiseptic sau un dezinfectant atunci când este utilizat pe piele? 7-10 Ce caracteristici fac agenții activi de suprafață atractivi pentru industria produselor lactate? 7-11

Ce dezinfectanți chimici pot fi considerați sporicide? 7-12 Ce substanțe chimice sunt folosite pentru sterilizare? 7-13

Caracteristicile microbiene și controlul microbian

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

7-14 Explicați modul în care tipul de microbi afectează controlul creșterii microbiene.

Multe biocide tind să fie mai eficiente împotriva bacteriilor gram-pozitive, ca grup, decât împotriva bacteriilor gram-negative. Acest principiu este ilustrat în Figura 7.11, care prezintă o ierarhie simplificată a rezistenței relative a grupurilor microbiene majore la biocide. Un factor principal în această rezistență relativă la biocide este stratul extern de lipopolizaharidă al bacteriilor gram-negative. În cadrul bacteriilor gram-negative, membrii genurilor Pseudomonas și Burkholderia prezintă un interes deosebit, „aceste bacterii strâns înrudite sunt neobișnuit de rezistente la biocide (vezi Figura 7.6) și chiar vor crește activ în unele dezinfectante și antiseptice, în special în compușii cuaternari de amoniu. În capitolul 20, veți vedea că aceste bacterii sunt, de asemenea, rezistente la multe antibiotice. Această rezistență la antimicrobienele chimice este legată în principal de caracteristicile porinelor lor (deschideri structurale în peretele bacteriilor gram-negative; vezi Figura 4.13c, pagina 85). Porinele sunt foarte selective față de molecule pe care le permit să intre în celulă.

Micobacteriile sunt un alt grup de bacterii non-endospore, care prezintă o rezistență mai mare decât cea normală la biocidele chimice. (Vezi caseta de la pagina 198.) Acest grup

include Mycobacterium tuberculosis, agentul patogen care cauzează tuberculoza. Peretele celular al acestui organism și al altor membri ai acestui gen au o componentă ceară, bogată în lipide. Etichetele cu instrucțiunile de pe dezinfectanți indică adesea dacă aceștia sunt tuberculocizi, indicând faptul că sunt eficienți împotriva micobacteriilor. Au fost dezvoltate teste speciale tuberculocide pentru a evalua eficacitatea biocidelor împotriva acestui grup bacterian.

Endosporii bacterieni sunt afectați de relativ puține biocide. („Activitatea grupurilor antimicrobiene chimice majore împotriva micobacteriilor și endosporilor este rezumată în Tabelul 7.7.) Chisturile și oochisturile protozoarelor sunt, de asemenea, relativ rezistente la dezinfecția chimică.

Rezistența virusurilor la biocide depinde în mare măsură de prezența sau absența unui plic. Antimicrobiene care sunt solubile în lipide

Ciuperci, inclusiv majoritatea sporilor de ciuperci

Virus® fără plicuri

Bacteriile Gram pozitive

Viruși cu plicuri lipidice

Cel mai puțin rezistent

Figura 7.11 Ordinea descrescătoare a rezistenței microorganismelor la biocide chimice.

De ce sunt virusurile cu plicuri care conțin lipide relativ sensibile la anumite biocide?

sunt mai probabil să fie eficiente împotriva virușilor înveliți. Eticheta unui astfel de agent va indica faptul că este eficient împotriva virusurilor lipofile. Virușii neînveliți, care au doar un înveliș proteic, sunt mai rezistenți - mai puține biocide sunt active împotriva lor.

O problemă specială, încă nerezolvată complet, este uciderea fiabilă a c prionilor. Prionii sunt proteine infecțioase care sunt cauza bolilor neurologice cunoscute sub numele de encefalopatii spongiforme, cum ar fi boala vacii nebune denumită popular (vezi capitolul 22, pagina 637). Ib distrug prionii, carcasa animalelor infectate, sunt incinerate. O problemă majoră este dezinfecția instrumentelor chirurgicale expuse la contaminarea cu prioni. Autoclavarea normală s-a dovedit a fi inadecvată, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) și Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC) au recomandat utilizarea combinată a unei soluții de hidroxid de sodiu și autoclavarea la 134°C. Rapoartele recente indică faptul că instrumentele chirurgicale au fost tratate cu succes pentru a inactiva prionii, care sunt

proteine, prin adăugarea de enzime protează la soluția de curățare. Chirurgii recurg uneori la utilizarea instrumentelor de unică folosință.

Eficacitatea antimicrobienelor chimice TABEL 7 � 7 împotriva endosporilor și micobacteriilor

În rezumat, este important să ne amintim că metodele de control microbian, în special biocidele, nu sunt eficiente în mod uniform împotriva tuturor microbilor.

Tabelul 7.8 rezumă agenții chimici utilizați pentru controlul creșterii microbiene.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Prezența sau absența endosporilor are un efect evident asupra controlului microbian, dar de ce bacteriile gram-negative sunt mai rezistente la biocidele chimice decât bacteriile gram-pozitive? 7-14

Caz clinic rezolvat

Norovirusul este un virus extrem de contagios și se poate răspândi rapid de la o persoană la alta. De asemenea, nu este învelit, deci nu poate fi distrus ușor de un biocid. Amy îl întreabă pe director dacă, odată ce școala a revenit la capacitatea maximă, poate organiza o adunare pentru a discuta despre importanța spălării mâinilor cu elevii și personalul. Spălarea corectă cu apă și săpun poate elimina transmiterea norovirusului către alte persoane sau suprafețe. Amy se întâlnește din nou cu personalul de custodie pentru a discuta recomandările departamentului de sănătate. Potrivit departamentului de sănătate, la curățarea suprafețelor de mediu care sunt vizibil murdare cu fecale sau vărsături, personalul trebuie să poarte măști și mănuși, să folosească un prosop de unică folosință care a fost înmuiat în detergent diluat pentru a șterge suprafața timp de cel puțin 10 secunde și apoi să aplice o soluție de înălbitor menajer 1:10 timp de cel puțin 1 minut. Deși Amy știe că aceasta nu va fi ultima dată când școala ei va fi afectată de un virus, este sigură că a făcut un pas pozitiv pentru a-și proteja elevii și personalul de acest virus special.

199 201

Compușii discutați în acest capitol nu sunt în general utili în tratamentul bolilor. Antibioticele și agenții patogeni împotriva cărora sunt activi vor fi discutate în capitolul 20.

TABELUL 7.8 Agenți chimici utilizați pentru controlul creșterii microbiene

Agent chimic	Mecanism de acțiune	Utilizare preferată	Comentariu

Fenol și fenolici

(continuare)

TABEL 7 .8 Agenți chimici utilizați pentru controlul creșterii microbiene (continuare)

Schița de studiu

MasteringMICROBlOLOGV'

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Terminologia controlului microbian (pag. 182-183)

Controlul creșterii microbiene poate preveni infecțiile și deteriorarea alimentelor.

Sterilizarea este procesul de îndepărtare sau distrugere a întregii vieți microbiene de pe un obiect.

Sterilizarea comercială este tratamentul termic al alimentelor conservate pentru a distruge endosporii de C. botulinum.

Dezinfecția este procesul de reducere sau inhibare a creșterii microbiene pe o suprafață nevii.

Antisepsia este procesul de reducere sau inhibare a microorganismelor de pe țesutul viu.

Sufixul -tide înseamnă a ucide; sufixul -stat înseamnă a inhiba.

Sepsisul este contaminarea bacteriană.

Rata morții microbiene (pag. 183)

Populațiile bacteriene supuse căldurii sau substanțelor chimice antimicrobiene mor de obicei într-un ritm constant.

O astfel de curbă a morții, atunci când este reprezentată logaritmic, arată această rată constantă a mortalității ca o linie dreaptă.

Timpul necesar pentru a ucide o populație microbiană este proporțional cu numărul de microbi.

Speciile microbiene și fazele ciclului de viață (de exemplu, endosporii) au sensibilități diferite la controale fizice și chimice.

Materia organică poate interfera cu tratamentele termice și agenții de control chimic.

Expunerea mai lungă la căldură mai scăzută poate produce același efect ca un timp mai scurt la căldură mai mare.

Acțiuni ale agenților de control microbian (pag. 183-185)

Modificarea permeabilității membranei (p. 183-184)

Susceptibilitatea membranei plasmatice se datorează componentelor sale lipidice și proteice.

Anumiți agenți de control chimic deteriorează membrana plasmatică prin

modificându-i permeabilitatea. .

Daune aduse proteinelor și acizilor nucleici (pag. 184-185)

Unii agenți de control microbian dăunează proteinelor celulare prin ruperea legăturilor de hidrogen și a legăturilor covalente.

Alți agenți interferează cu ADN și ARN și sinteza proteinelor.

Metode fizice de microbi

Control fpp. 185-190)

Căldură (pp. 185-188)

Căldura este folosită frecvent pentru a ucide microorganismele.

Căldura umedă ucide microbii prin denaturarea enzimelor.

Punctul de moarte termică (TDP) este cea mai scăzută temperatură la care toți microbii dintr-o cultură lichidă vor fi uciși în 10 minute.

Timpul de moarte termică (TD f) este durata de timp necesară pentru a ucide toate bacteriile dintr-o cultură lichidă la o anumită temperatură.

Timpul de reducere zecimal (DRT) este perioada de timp în care 90°4 dintr-o populație bacteriană vor fi ucise la o anumită temperatură.

Fierberea (100°C) ucide multe celule vegetative și viruși în decurs de 10 minute.

Autoclavarea (abur sub presiune) este cea mai eficientă metodă de sterilizare cu căldură umedă. Aburul trebuie să intre direct în contact cu materialul de sterilizat.

În pasteurizarea HTS, o temperatură ridicată este utilizată pentru o perioadă scurtă de timp (72°C timp de 15 secunde) pentru a distruge agenții patogeni fără a altera aroma alimentelor. Tratamentul la temperatură ultra-înaltă (UHT) (140°C timp de 4 secunde) este utilizat pentru sterilizarea produselor lactate.

Metodele de sterilizare cu căldură uscată includ arderea directă, incinerarea și sterilizarea cu aer cald. Căldura uscată ucide prin oxidare.

Diferite metode care produc același efect (reducerea creșterii microbiene) sunt numite tratamente echivalente.

Filtrare (pag. 188)

Filtrarea este trecerea unui lichid sau gaz printr-un filtru cu pori suficient de mici pentru a reține microbii.

Microbii pot fi îndepărtați din aer prin filtre de înaltă eficiență pentru particule de aer (HEPA).

Filtrele cu membrană compuse din esteri de celuloză sunt utilizate în mod obișnuit pentru a filtra bacteriile, virușii și chiar proteinele mari.

Temperaturi scăzute (pp. 188-189)

Eficacitatea temperaturilor scăzute depinde de microorganismul particular și de intensitatea aplicării.

Majoritatea microorganismelor nu se reproduc la temperaturi obișnuite ale frigiderului (0-7°C).

Mulți microbi supraviețuiesc (dar nu cresc) la temperaturile sub zero folosite pentru depozitarea alimentelor.

Presiune înaltă (pag. 189)

Presiunea ridicată denaturează proteinele din celulele vegetative.

Deshidratare (pag. 189)

În absența apei, microorganismele nu pot crește, dar pot rămâne viabile.

Virușii și endosporii pot rezista la uscare.

Presiune osmotică (pag. 189)

Microorganismele în concentrații mari de săruri și zaharuri sunt supuse plasmolizei.

Mucegaiurile și drojdiile sunt mai capabile decât bacteriile să crească în materiale cu umiditate scăzută sau presiune osmotică ridicată.

Radiații (p. 189-190)

Efectele radiațiilor depind de lungimea de undă, intensitatea și durata acesteia.

Radiațiile ionizante (raze gamma, raze X și fascicule de electroni de înaltă energie) au un grad ridicat de penetrare și își exercită efectul în primul rând prin ionizarea apei și formarea de radicali hidroxil foarte reactivi.

Radiația ultravioletă (UV), o formă de radiație neionizantă, are un grad scăzut de penetrare și provoacă leziuni celulare prin formarea de dimeri de timină în ADN care interferează cu replicarea ADN-ului;

lungimea de undă germicida cea mai eficientă este de 260 nm.

Microundele pot ucide microbii indirect, pe măsură ce materialele se încălzesc.

Metode chimice de microbi

Control (p. 190-200)

Agenții chimici sunt utilizați pe țesuturile vii (ca antiseptice) și pe obiectele neînsuflețite (ca dezinfectante).

Puțini agenți chimici ating sterilitatea.

Principiile dezinfectării eficiente (pag. 191-192)

O atenție deosebită trebuie acordată proprietăților și concentrației dezinfectantului care urmează să fie utilizat.

De asemenea, ar trebui luate în considerare prezența materiei organice, gradul de contact cu microorganismele și temperatura.

Evaluarea unui dezinfectant (pag. 192)

În testul de utilizare-diluare, se determină supraviețuirea bacteriilor în diluția recomandată de producători a unui dezinfectant.

Virușii, bacteriile care formează endospori, micobacteriile și ciupercile pot fi, de asemenea, utilizate în testul de diluare a utilizării.

În metoda de difuzie pe disc, un disc de hârtie de filtru este înmuiat cu o substanță chimică și plasat pe o placă de agar inoculată; o zonă de inhibiție indică eficacitate.

Tipuri de dezinfectanți (p. 192-200)

Substanțele fenolice își exercită acțiunea prin lezarea membranelor plasmatice.

Bisfenolii, cum ar fi triclosanul (eliberat fără prescripție medicală) și hexaclorofenul (prescripție) sunt utilizați pe scară largă în produsele de uz casnic.

Biguanidele afectează membranele plasmatice ale celulelor vegetative.

Unii halogeni (iod și clor) sunt utilizați singuri sau ca componente ale soluțiilor anorganice sau organice.

Iodul se poate combina cu anumiți aminoacizi pentru a inactiva enzimele și alte proteine celulare.

Iodul este disponibil sub formă de tinctură (în soluție cu alcool) sau ca iodofor (combinat cu o moleculă organică).

Acțiunea germicidă a clorului se bazează pe formarea acidului hipocloros atunci când clorul este adăugat în apă.

Alcoolii își exercită acțiunea prin denaturarea proteinelor și dizolvarea lipidelor.

În tincturi, ele sporesc eficacitatea altor substanțe chimice antimicrobiene.

Siui.dy Întrebări

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

„timpul de moarte termică pentru o suspensie de endospori de Bacillus subtilis este de 30 de minute la căldură uscată și mai puțin de 10 minute într-o autoclavă. Ce tip de căldură este mai eficient? De ce?

Ca dezinfectanți se folosesc etanol apos (60-95%) și izopropanol.

Argintul, mercurul, cuprul și zincul sunt folosite ca germicide.

Ei își exercită acțiunea antimicrobiană prin acțiune oligodinamică. Când ionii de metale grele se combină cu grupări sulfhidril (—SH), proteinele sunt denaturate.

Agenții de suprafață scad tensiunea superficială dintre moleculele unui lichid; săpunurile și detergenții sunt exemple.

Săpunurile au acțiune germicidă limitată, dar ajută la îndepărtarea microorganismelor.

Detergenții acido-anionici sunt utilizați pentru curățarea echipamentelor de lactate.

Quats sunt detergenți cationici atașați la NH4.

Prin distrugerea membranelor plasmatice, quat-urile permit constituenților citoplasmatici să se scurgă din celulă.

Quat-urile sunt cele mai eficiente împotriva bacteriilor gram-pozitive.

SO2, acidul sorbic, acidul benzoic și acidul propionic inhibă metabolismul fungic și sunt utilizați ca conservanți alimentari.

Sărurile de nitrați și nitriți împiedică germinarea endosporilor de C. botulinum din carne.

Nizina și natamicina sunt anibiotice folosite pentru conservarea alimentelor, în special a brânzei.

Aldehidele precum formaldehida și glutaraldehida își exercită efectul antimicrobian prin inactivarea proteinelor.

Sunt printre cei mai eficienți dezinfectanți chimici.

Oxidul de etilenă este gazul cel mai frecvent utilizat pentru sterilizare.

Pătrunde în majoritatea materialelor și ucide toate microorganismele prin denaturarea proteinelor.

Radicalii liberi din gazele plasmatice sunt utilizați pentru sterilizarea instrumentelor din plastic.

Fluidele supercritice, care au proprietăți de lichid și gaz, se pot steriliza la temperaturi scăzute.

Peroxidul de hidrogen, acidul peracetic, peroxidul de benzoil și ozonul își exercită efectul antimicrobian prin oxidarea moleculelor din interiorul celulelor.

Caracteristici microbiene

și controlul microbian (pag. 200 202)

Bacteriile gram-negative sunt în general mai rezistente decât bacteriile gram-pozitive la dezinfectanți și antiseptice.

Micobacteriile, endosporii și chisturile și oochisturile protozoare sunt foarte rezistente la dezinfectanți și antiseptice.

Virușii neînveliți sunt în general mai rezistenți decât virușii înveliți la dezinfectanți și antiseptice.

Prionii sunt rezistenți la dezinfecție și autoclavare.

Dacă pasteurizarea nu realizează sterilizarea, de ce este folosită pasteurizarea pentru tratarea alimentelor?

Punctul de moarte termică nu este considerat o măsură exactă a eficacității sterilizării termice. Enumerați trei factori care pot modifica punctul de moarte termică.

Efectul antimicrobian al radiațiilor gamma se datorează

'a) Efectul antimicrobian al ultravioletelor

radiația se datorează (b) ______

| O cultură bacteriană a fost în fază log în cele ce urmează

.pistol.. La momentul x, un compus antibacterian a fost adăugat la cultură. Desenați liniile care indică adăugarea unui compus bactericid și a unui compus bacteriostatic. Explicați de ce numărul viabil nu scade imediat la zero la x.

Cum ilustrează autoclavarea, aerul cald și pasteurizarea conceptul de tratamente echivalente?

Cum sărurile și zaharurile păstrează alimentele? De ce sunt acestea considerate mai degrabă metode fizice decât chimice de control microbian? Numiți un aliment care este conservat cu zahăr și unul conservat cu sare. Cum țineți cont de creșterea ocazională a mucegaiului Penicillium în jeleu, care este 50% zaharoză?

Valorile de utilizare-diluție pentru doi dezinfectanți testați în aceleași condiții sunt următoarele: Dezinfectant A—1:2; Dezinfectant B—1:10.000. Dacă ambii dezinfectanți sunt proiectați pentru același scop, pe care ați alege?

Un spital mare spală pacienți arși într-o cuvă de oțel inoxidabil. După fiecare pacient, cada se curăță cu un quat. S-a observat că 14 din 20 de pacienți arși au dobândit infecții cu Pseudomonas după ce au fost îmbăiați. Oferă o explicație pentru această rată ridicată de infecție.

Ce bacterie are porine, este rezistentă la triclosan,

și supraviețuiește și poate crește în quats?

Alegere Multiplă

Care dintre următoarele nu ucide endosporii?

autoclavarea

incinerare

sterilizare cu aer cald

pasteurizare

Toate cele de mai sus ucid endosporii.

Care dintre următoarele este cea mai eficientă pentru sterilizarea saltelelor și a vaselor Petri din plastic?

clor

oxid de etilenă

glutaraldehidă

autoclavarea

radiații neionizante

Care dintre acești dezinfectanți nu acționează prin distrugerea membranei plasmatice?

fenolici

fenol

compuși cuaternari de amoniu

halogeni

biguanide

Care dintre următoarele nu poate fi folosită pentru a steriliza o soluție termolabilă depozitată într-un recipient de plastic?

radiații gama

oxid de etilenă

fluide supercritice

autoclavarea

radiații cu lungime de undă scurtă

Care dintre următoarele nu este o caracteristică a compușilor cuaternar de amoniu?

bactericid împotriva bacteriilor gram-pozitive

sporicid

amebicid

fungicid

ucide virușii înveliți

Un coleg de clasă încearcă să determine cum un dezinfectant ar putea ucide celulele. Ai observat că atunci când a vărsat dezinfectantul în laptele tău de turnesol redus, turnesolul a devenit din nou albastru. Îi sugerezi colegului tău asta

dezinfectantul ar putea inhiba sinteza peretelui celular.

dezinfectantul ar putea oxida moleculele.

dezinfectantul ar putea inhiba sinteza proteinelor.

dezinfectantul ar putea denatura proteinele.

el ia munca lui departe de a ta.

Care dintre următoarele este cel mai probabil să fie bactericid?

filtrare prin membrana

radiatii ionizante

liofilizare (liofilizare)

congelare adâncă

toate cele de mai sus

Care dintre următoarele este folosită pentru a controla creșterea microbiană în alimente?

acizi organici

alcooli

aldehide

metale grele

toate cele de mai sus

Utilizați următoarele informații pentru a răspunde la întrebările 9 și 10. Datele au fost obținute dintr-un test de utilizare-diluare care compară patru dezinfectanți cu Salmonella choleraesuis. G = creștere, NG = fără creștere

Creșterea bacteriană după expunerea la

Dezinfectant Dezinfectant Disinfectant Disinfectant Dilution AB CD

Care dezinfectant este cel mai eficient?

Ce dezinfectant(i) este (sunt) bactericid?

A, B, C și D

A, C și D

A numai

Doar B

nici una dintre cele de mai sus

Gândire critică

Metoda de difuzie pe disc a fost folosită pentru a evalua trei dezinfectanți. Rezultatele au fost următoarele:

Zona de inhibare dezinfectantă

X	0 mm
Y	5 mm
Z	10 mm

Care dezinfectant a fost cel mai eficient împotriva organismului?

Puteți determina dacă compusul Y a fost bactericid sau bacteriostatic?

Pentru fiecare dintre următoarele bacterii, explicați de ce este adesea rezistentă la dezinfectanți.

Mycobacterium

Pseudomonas

Bacil

Un test de utilizare-diluare a fost utilizat pentru a evalua doi dezinfectanți împotriva Salmonella choleraesuis. Rezultatele au fost următoarele:

Creșterea bacteriană după expuneri

Care dezinfectant a fost cel mai eficient?

Ce dezinfectant ar trebui folosit împotriva stafilococului?

Pentru a determina acțiunea letală a radiațiilor cu microunde, doi

S-au preparat 105 suspensii de E. coli. O suspensie celulară a fost expusă la radiații cu microunde în timp ce este umedă, în timp ce cealaltă a fost liofilizată (uscată prin congelare) și apoi expusă la radiații. Rezultatele sunt prezentate în figura următoare. Liniile întrerupte indică temperatura probelor. Care este cea mai probabilă metodă de acțiune letală a radiațiilor cu microunde? Cum credeți că aceste date ar putea diferi pentru Clostridium?

Aplicații clinice

Entamoeba histolytica și Giardia lamblia au fost izolate din proba de scaun a unui bărbat de 45 de ani, iar Shigella sonnei a fost izolată din proba de scaun a unei femei de 18 ani. Ambii pacienți au prezentat diaree și crampe abdominale severe și, înainte de apariția simptomelor digestive, ambii au fost tratați de același chiropractician. Chiropracticianul le administrase acestor pacienți irigații colonice (clisme). Dispozitivul folosit pentru acest tratament a fost un aparat dependent de gravitație care folosește 12 litri de apă de la robinet. Nu existau supape de reținere pentru a preveni refluxul, astfel încât toate părțile aparatului ar fi putut fi contaminate cu fecale în timpul fiecărui tratament colonic. Chiropracticianul a oferit tratament colonic la patru sau cinci pacienți pe zi. Între pacienți, piesa adaptoare care este introdusă în rect a fost plasată într-un „sterilizator cu apă caldă”.

Ce două erori a făcut chiropracticianul?

Între 9 martie și 12 aprilie, cinci pacienți cu dializă peritoneală cronică dintr-un spital au fost infectați cu Pseudomonas aeruginosa. Patru pacienți au dezvoltat peritonită (inflamație a cavității abdominale), iar unul a dezvoltat o infecție a pielii la locul de inserare a cateterului. Toți pacienții cu peritonită au avut febră scăzută, lichid peritoneal tulbure și dureri abdominale. Toți pacienții aveau catetere peritoneale permanente, pe care asistenta le ștergea cu tifon care fusese înmuiat cu o soluție de iodofor de fiecare dată când cateterul a fost conectat sau deconectat de la tubulatura aparatului. Alicote de iodofor au fost transferate din sticle de stoc în sticle mici în utilizare. Culturile din concentratul de dializat și zonele interne ale aparatelor de dializă au fost negative; iodoforul dintr-un recipient mic de plastic utilizat

o cultură pură de P. aeruginosa.

Ce tehnică necorespunzătoare a dus la această infecție?

Investigați un focar național de Ralstonia mannitolilytica asociat cu utilizarea unui dispozitiv contaminat de livrare a oxigenului în rândul pacienților pediatrici. Dispozitivul adaugă umiditate și încălzește oxigenul. Fiecare spital a respectat recomandarea producătorului de a folosi un detergent pentru a curăța componentele reutilizabile ale dispozitivului între pacienți. Apa de la robinet este permisă în dispozitiv deoarece dispozitivul folosește un filtru reutilizabil de 0,01 pm ca barieră biologică între

compartimentele de aer și apă. Ralstonia este o baghetă gram-negativă întâlnită frecvent în apă.

De ce a eșuat dezinfecția?

Ce recomandati pentru dezinfectare? Dispozitivul nu poate fi autoclavat.

Timp (min)

Genetica microbiană

V

De fapt, toate trăsăturile microbiene despre care ați citit în capitolele anterioare sunt controlate sau influențate de ereditate. Trăsăturile moștenite ale microbilor includ forma și trăsăturile structurale ale acestora, metabolismul lor, capacitatea lor de a se mișca sau de a se comporta în diferite moduri și capacitatea lor de a interacționa cu alte organisme – poate cauzând boli. Organismele individuale transmit aceste caracteristici descendenților lor prin gene.

Dezvoltarea rezistenței la antibiotice la microorganisme depinde de genetică. Rezistența la antibiotice este adesea purtată pe plasmide precum cele din figură. Plasmidele sunt ușor transferate între celulele bacteriene. Ele sunt responsabile pentru apariția Staphylococcus aureus rezistent la meticilină și apariția recentă a Klebsiella pneumoniae rezistentă la carbapenem. Apariția 5. aureus rezistent la vancomicină (VRSA) reprezintă o amenințare serioasă pentru îngrijirea pacientului. În acest capitol veți vedea cum VRSA a dobândit această trăsătură.

Bolile emergente oferă un alt motiv pentru care este important să înțelegem genetica. Noile boli sunt rezultatul modificărilor genetice ale unor organisme existente; de exemplu, E coll O157:H7 a dobândit genele pentru toxina Shiga de la Shigella.

În prezent, microbiologii folosesc genetica pentru a descoperi relațiile dintre organisme, pentru a explora originile organismelor precum HIV și virusul gripal H1N1 și pentru a studia modul în care sunt exprimate genele.

Structura și Funcția Materialului Genetic

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

8-1 Definiți genetica, genomul, cromozomul, gena, codul genetic, genotipul, fenotipul și genomica.

8-2 Descrieți modul în care ADN-ul servește ca informație genetică.

8-3 Descrieți procesul de replicare a ADN-ului.

8-4 Descrieți sinteza proteinelor, inclusiv transcripția, procesarea ARN și translația.

8-5 Comparați sinteza proteinelor la procariote și eucariote.

Genetica este știința eredității; include studiul a ceea ce sunt genele, modul în care transportă informații, modul în care sunt replicate și transmise la generațiile ulterioare de celule sau transmise între organisme și modul în care exprimarea informațiilor lor în cadrul unui organism determină caracteristicile particulare ale

acelui organism. Informația genetică dintr-o celulă se numește genom. Genomul unei celule include cromozomii și plasmidele acesteia. Cromozomii sunt structuri care conțin ADN care transportă fizic informații ereditare; cromozomii conțin genele. Genele sunt segmente de ADN (cu excepția unor viruși, în care sunt formate din ARN) care codifică pentru produse funcționale.

Caz clinic: Unde este fum

Marcel DuBois, un bunic de 12 ani, în vârstă de 70 de ani, închide telefonul în liniște. Doctorul lui tocmai l-a sunat cu rezultatele testului ADN la scaun pe care l-a efectuat la Clinica Mayo săptămâna trecută. Medicul lui Marcel a sugerat acest instrument de screening experimental, non-invaziv pentru cancerul colorectal, deoarece Marcel nu se simte confortabil cu procedura de colonoscopie și de obicei încearcă să amâne obținerea uneia. Cu toate acestea, testul ADN pentru scaun folosește mostre de scaun, care conțin celule care au fost eliminate din mucoasa colonului. ADN-ul din aceste celule este testat pentru markeri ADN care pot indica prezența polipilor precancerosi sau a tumorilor canceroase. Marcel își face programare să vină să-și vadă medicul în după-amiaza următoare.

Odată ajuns în cabinet, medicul le explică lui Marcel și soției sale, Janice, că testul ADN din scaun a detectat prezența polipilor colorectali zimțați. Acest tip de polip este de obicei dificil de văzut cu o colonoscopie, deoarece nu este ridicat și poate avea aceeași culoare cu peretele colonului.

Cum poate ADN-ul să arate dacă o persoană are cancer? Citiți mai departe pentru a afla.

Am văzut în capitolul 2 că ADN-ul este o macromoleculă compusă din unități repetate numite nucleotide. Amintiți-vă că fiecare nuc eotic constă dintr-o nucleobază (adenină, timină, citozină sau guanină), dezoxiriboză (un zahăr pentoză) și o grupare fospnat (vezi Figura 2.16, pagina 46). ADN-ul dintr-o celulă există ca fire lungi de nucleotide răsucite împreună în perechi pentru a forma o dublă helix. Fiecare șuviță are un șir de grupe alternante de zahăr și fosfat (coloana vertebrală zahăr-fosfat) și o bază azotată este atașată la fiecare zahăr din coloana vertebrală. Cele două catene sunt ținute împreună prin legături de hidrogen între bazele lor azotate. Perechile de baze apar întotdeauna într-un mod specific: adenina se împerechează întotdeauna cu timină, iar citozina se împerechează întotdeauna cu guanina. Datorită acestei perechi de baze specifice, secvența de baze a unei catene de ADN determină secvența de baze a celeilalte catene. Cele două catene de ADN sunt astfel complementare.

Structura ADN-ului ajută la explicarea a două caracteristici principale ale stocării informațiilor biologice. În primul rând, secvența liniară de baze oferă informațiile reale. Informația genetică este codificată de secvența de baze de-a lungul unei catene de ADN, în

același mod în care limba noastră scrisă folosește o secvență liniară de litere pentru a forma cuvinte și propoziții. Limbajul genetic, totuși, folosește un alfabet cu doar patru litere - cele patru tipuri de nucleobaze din ADN (sau ARN). Dar 1000 dintre aceste patru baze, numărul conținut într-o genă de mărime medie, pot fi aranjate în 41000 de moduri diferite. Acest număr astronomic mare explică modul în care genele pot fi suficient de variate pentru a oferi toate informațiile de care o celulă are nevoie pentru a crește și a-și îndeplini funcțiile. Codul genetic, setul de reguli care determină modul în care o secvență de nucleotide este convertită în secvența de aminoacizi a unei proteine, este discutat mai detaliat mai târziu în capitol.

În al doilea rând, structura complementară permite duplicarea precisă a ADN-ului în timpul diviziunii celulare. Fiecare celulă descendentă primește una dintre firele originale de la părinte; asigurând astfel o componentă care funcționează corect.

O mare parte din metabolismul celular este preocupată de traducerea mesajului genetic al genelor în proteine specifice. O genă codifică de obicei o moleculă de ARN mesager (ARNm), care în cele din urmă are ca rezultat formarea unei proteine. Alternativ, produsul genic poate fi un ARN ribozomal (ARNr), ARN de transfer (ARNt) sau microARN (ARNm). După cum vom vedea, toate aceste tipuri de ARN sunt implicate în procesul de sinteză a proteinelor. Când a fost produsă molecula finală pentru care o genă codifică (o proteină, de exemplu), spunem că gena a fost exprimată.

Genotip și fenotip

Genotipul unui organism este structura sa genetică, informațiile care codifică toate caracteristicile particulare ale organismului. Genotipul reprezintă proprietăți potențiale, dar nu proprietățile în sine. Fenotipul se referă la proprietăți reale, exprimate, cum ar fi capacitatea organismelor de a efectua o anumită reacție chimică. Fenotipul este, deci, manifestarea genotipului.

În termeni moleculari, genotipul unui organism este colecția sa de gene, întregul său ADN. Ce constituie fenotipul organismului • i termenii moleculari? Într-un fel, fenotipul unui organism este colecția sa de proteine. Majoritatea proprietăților unei celule derivă din structurile și funcțiile proteinelor sale. La microbi, majoritatea proteinelor sunt fie enzimatice (catalizează anumite reacții), fie structurale (participă la complexe funcționale mari, cum ar fi membranele sau flagelii). Chiar și fenotipurile care depind de mac.omoiecule structurale, altele decât proteinele (cum ar fi lipidele sau polizaharidele) se bazează indirect pe proteine. De exemplu, structura c- o moleculă complexă de lipide sau polizaharidă rezultă din activitățile catalitice ale enzimelor care sintetizează, procesează și degradează acele molecule. Astfel, deși nu este complet corect să spunem că fenotipurile se datorează doar proteinelor, este o simplificare utilă.

ADN și cromozomi

Bacteriile au de obicei un singur cromozom circular format dintr-o singură moleculă circulară de ADN cu proteine asociate. Cromozomul este buclat și pliat și atașat în unul sau

mai multe puncte de membrana plasmatică. DN A al E. coli are aproximativ 4,6 milioane de perechi de baze și are aproximativ 1 mm lungime - de 1000 de ori mai lung decât întreaga celulă (Figura 8.1a). Cu toate acestea, cromozomul ocupă doar aproximativ 10% din volumul celulei, deoarece ADN-ul este răsucit sau supraîntors. .

Inițial, locația genelor pe un cromozom bacterian a fost determinată prin experimente privind transferul genelor de la o celulă la alta. Aceste procese vor fi discutate mai târziu în acest capitol. Prin urmare, harta cromozomală bacteriană este marcată în minute, corespunzătoare momentului în care genele sunt transferate de la o celulă donatoare la o celulă primitoare (Figura 8.1b). Întregul genom nu este format din gene spate în spate. Regiunile necodificatoare numite repetări scurte în tandem (STR) apar în majoritatea genomilor, inclusiv în cel al E. coli. STR-urile sunt secvențe repetate de secvențe de două până la cinci baze. Acestea sunt utilizate în amprentarea ADN (discutat la pagina 261).

Acum, secvențele de baze complete ale cromozomilor pot fi determinate. Calculatoarele sunt folosite pentru a căuta cadre deschise de citire, adică regiuni ale ADN-ului care ar putea codifica o proteină. După cum veți vedea mai târziu, acestea sunt secvențe de bază între codonii de pornire și de oprire. Secvențierea și caracterizarea moleculară a genomului se numește genomică. Utilizarea genomicii pentru a urmări virusul West Nile este descrisă în caseta de la pagina 220.

Fluxul de informații genetice

Replicarea ADN-ului face posibilă fluxul de informații genetice de la o generație la alta. După cum se arată în Figura 8.2, ADN-ul unei celule se replic înainte de diviziunea celulară, astfel încât fiecare celulă descendentă primește un cromozom identic cu cel al părintelui. În cadrul fiecărei celule care se metabolizează, informația genetică conținută în ADN curge și în alt mod: este transcrisă în ARNm și apoi tradusă în proteină. Descriem procesele de transcriere și traducere mai târziu în acest capitol.

r 1 Replicarea și repararea ADN-ului Sinteza membranei

EZ Metabolismul lipidic (b) O hartă genetică a cromozomului E. coli. Numerele din interiorul cercului indică numărul de minute necesare pentru a transfera genele în timpul împerecherii între două celule; numerele din casetele colorate indică numărul de perechi de baze. 1 kbp = 1000 de perechi de baze.

Figura 8.1 Un cromozom procariot.

Ce este o genă? Ce este un cadru de citire deschis?

Fluxul de informații genetice

KEYCCÎMCIEPTS

| Informația genetică este utilizată în interiorul unei celule pentru a produce

; proteinele necesare pentru funcționarea celulei.

■ Transcriere

Traducere,

Celula se metabolizează și crește

ADN

ADN-ul este modelul pentru proteinele unei celule, inclusiv enzimele.

ADN-ul se obține fie dintr-o altă celulă din aceeași generație, fie dintr-o celulă părinte în timpul diviziunii celulare.

ADN-ul poate fi exprimat în interiorul unei celule sau transferat la o altă celulă prin recombinare și replicare.

Informațiile genetice pot fi

transferate între celulele aceleiași generații.

Informațiile genetice pot fi transferate între generații de celule.

Celulă recombinantă

Celulele fiice

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Oferiți o aplicație clinică a genomicii. 8-1

De ce este importantă împerecherea bazelor din ADN? 8-2

Replicarea ADN-ului

În replicarea ADN-ului, o moleculă de ADN dublu catenară „parentală” este convertită în două molecule „fiice” identice. Structura complementară a secvențelor de baze azotate din molecula de ADN este cheia înțelegerii replicării ADN-ului. Deoarece bazele de-a lungul celor două catene de ADN dublu elicoidal sunt complementare, o catenă poate acționa ca un șablon pentru producerea celeilalte catene (Figura 8.3a).

Replicarea ADN-ului necesită prezența mai multor proteine celulare care direcționează o anumită secvență de evenimente. Enzimele implicate în replicarea ADN-ului și alte procese sunt enumerate în Tabelul 8.1. Când începe replicarea, supraînfășurarea este relaxată de topoizomerază sau Syrase> iar cele două catene de ADN parental sunt desfășurate de helicază şi separate una de cealaltă într-un segment mic de ADN după altul. Nucleotidele libere prezente în citoplasma celulei se potrivesc cu bazele expuse ale ADN-ului parental monocatenar. Acolo unde timina este prezentă pe firul inițial, numai adenina se poate încadra pe noua șuviță; în cazul în care guanina este prezentă pe firul inițial, numai citozina

se poate potrivi în loc și așa mai departe. Orice baze care sunt împerecheate incorect de baze sunt îndepărtate și înlocuite cu enzime de replicare. Odată aliniată, nucleotida nou adăugată este unită cu catena de ADN în creștere printr-o enzimă numită ADN polimerază. Apoi, ADN-ul parental este derulat puțin mai departe pentru a permite adăugarea următoarelor nucleotide. Punctul în care are loc replicarea se numește furca de replicare.

Pe măsură ce furculița de replicare se mișcă de-a lungul ADN-ului parental, fiecare dintre catene simple neînfășurate se combină cu noi nucleotide. Șuvița originală și șuvița sa fiică nou sintetizată se derulează apoi. Pentru că fiecare nouă moleculă de ADN dublu catenar conține

Adenina Qaa T] Timina Guanina | G (Cc~~| Citozina

Zahăr dezoxiriboză

Fosfat

5' capăt

3' capăt

Șuviță parentală

Helixul dublu al ADN-ului parental se separă pe măsură ce legăturile slabe de hidrogen dintre nucleotidele de pe catenele opuse se rup ca răspuns la acțiunea enzimelor de replicare.

Legăturile de hidrogen se formează între noi nucleotide complementare și fiecare catenă a matriței parentale pentru a forma noi perechi de baze.

Enzimele catalizează formarea legăturilor zahăr-fosfat între nucleotidele secvenţiale de pe fiecare catenă fiică rezultată.

Suvita
fiică

CO

5' sfârşit
Suvita parentală

Suvita fiică

Capătul 3'
Suvita parentală

formare

(b) Cele două catene de ADN sunt antiparalele.

coloana vertebrală de zahăr-fosfat a unei toroane este inversată în raport cu coloana vertebrală a celeilalte toroane. Întoarceți cartea cu susul în jos pentru a demonstra acest lucru.

(a) Furca de replicare

Figura 8.3 Replicarea ADN-ului.

Care este avantajul replicării semiconservative?

TABELUL 8.1 Enzime importante în replicarea, expresia și repararea ADN-ului

New
Strand

Șablon
Strand

Figura 8.4 Adăugarea unei nucleotide la ADN.

Zahăr

fosfat'

OH

OB

Când un nucleozid trifosfat se leagă de zahăr, acesta pierde doi fosfați.

Hidroliza legăturilor de fosfat asigură energia pentru reacție.

OH

șuviță? De ce nu se pot „face" ambele fire în același mod?

o catenă originală (conservată) și una nouă, procesul de replicare este denumit replicare semiconservativă.

Înainte de a privi mai în detaliu replicarea ADN-ului, să aruncăm o privire mai atentă asupra structurii ADN-ului (vezi Figura 2.16, la pagina 46). Este important să înțelegem conceptul că ADN-ul pereche

firele sunt orientate în direcții opuse unul față de celălalt. Observați ;n Figura 2.16 că atomii de carbon din componenta zahărului fiecărei nucleotide sunt numerotați de la 1’ (pronunțat „un prim”) până la 5’. Pentru ca bazele pereche să fie una lângă cealaltă, componentele de zahăr dintr-o șuviță sunt inversate față de cealaltă, se termină cu

hidroxilul atașat la carbonul 3’ se numește capătul 3’ al catenei de ADN; capătul având un fosfat atașat de carbonul 5’ se numește capătul 5’. Modul în care cele două fire se potrivesc împreună dictează că direcția 5’ —* 3’ a unei șuvițe să fie contrară direcției 5’ ~* 3 a celeilalte șuvițe (Figura 8.3b). „Structura sa a ADN-ului afectează procesul de replicare, deoarece polimerazele ADN pot adăuga noi nucleotide doar la capătul 3”. Prin urmare, pe măsură ce furculița de replicare se mișcă de-a lungul ADN-ului parental, cele două noi fire trebuie să crească în direcții diferite. ..

Replicarea ADN-ului necesită multă energie. Energia este furnizată din nucleotide, care sunt de fapt nucleozide trifosfați. Știți deja despre ATP; singura diferență dintre ATP și nucleotida adenină din ADN este componenta zahărului. Deoxiriboza este zahărul din nucleozidele folosit pentru a sintetiza ADN-ul, iar nucleozide trifosfați cu riboză sunt utilizați pentru a sintetiza ARN. Două grupări fosfat sunt îndepărtate pentru a adăuga nucleotida la o catenă de ADN în creștere; hidroliza nucleozidei este exergonica si furnizeaza energie pentru realizarea noilor legaturi in catena de ADN (Figura 8.4).

Figura 8.5 oferă mai multe detalii despre mulți pași care merg în acest proces complex.

Replicarea ADN-ului de către unele bacterii, cum ar fi E. coli, merge bidirecțional în jurul cromozomului (Figura 8.6). Două furci de replicare se deplasează în direcții opuse departe de originea replicării. Deoarece cromozomul bacterian este o buclă închisă, furcile de replicare se întâlnesc în cele din urmă când replicarea este finalizată. Cei doi

!. J) ARN polimeraza se leagă de promotor, iar ADN-ul se desfășoară la începutul unei gene.

,'g) ARN-ul este sintetizat prin împerecherea bazelor complementare a nucleotidelor libere cu bazele nucleotidice de pe catena matriță a ADN-ului.

Locul de sinteză se deplasează de-a lungul ADN-ului; ADN-ul care a fost transcris se derulează înapoi.

Q Transcrierea ajunge la terminator.

(L5) ARN și ARN polimeraza sunt eliberate, iar helixul ADN-ului se reformează.

Figura 8.7 Procesul de transcriere. Diagrama de orientare indică relația dintre transcripție și fluxul general de informații genetice din interiorul unei celule.

Când se oprește transcrierea?

buclele trebuie separate de o topoizomerază. Multe dovezi arată o asociere între membrana plasmatică bacteriană și originea replicării. După duplicare, dacă fiecare copie a originii se leagă de membrană la poli opuși, atunci fiecare celulă fiică primește o copie a moleculei de ADN - adică un cromozom complet.

Replicarea ADN-ului este un proces uimitor de precis. De obicei, greșelile sunt făcute la o rată de numai 1 din fiecare baze IO10 încorporate. O astfel de acuratețe se datorează în mare măsură capacității de corectare a ADN polimerazei. Pe măsură ce fiecare bază nouă este adăugată, enzima evaluează dacă formează structura adecvată de împerechere a bazelor complementare. Dacă nu, enzima excizează baza necorespunzătoare și o înlocuiește cu cea corectă. În acest fel, ADN-ul poate fi rep;:cat foarte precis, permițând fiecărui cromozom fiică să fie practic identic cu ADN-ul parental. ® Animații Replicarea ADN-ului: prezentare generală, formarea furculiței de replicare, proteine de replicare, sinteză •

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Descrieți replicarea ADN-ului, înșelând funcțiile ADN-girazei,

ADN ligaza și ADN polimeraza. 8-3

ARN și sinteza proteinelor

Cum sunt utilizate informațiile din ADN pentru a produce proteinele care controlează activitățile celulare? În procesul de transcripție, informațiile genetice din ADN sunt copiate sau transcrise într-o secvență de baze complementară de ARN. Celula folosește apoi informațiile codificate în acest ARN pentru a sintetiza proteine specifice prin procesul de traducere. Acum aruncăm o privire mai atentă la aceste două procese, așa cum apar într-o celulă bacteriană.

Transcriere

Transcripția este sinteza unei catene complementare de ARN dintr-o matriță de ADN. Vom discuta aici despre transcrierea în celulele procariote. Transcrierea la eucariote este discutată la pagina 218. ARN-ul ribozomal (ARNr) formează o parte integrantă a ribozomilor, mașina celulară pentru sinteza proteinelor, „ARN de transfer este, de asemenea, implicat în sinteza proteinelor, așa cum vom vedea. ARN-ul mesager (ARNm) transportă informațiile codificate pentru a produce proteine specifice de la ADN la ribozomi, unde proteinele sunt sintetizate.

În timpul transcripției, o catenă de ARNm este sintetizată folosind o porțiune specifică a ADN-ului celulei ca matriță. Cu alte cuvinte, informația genetică stocată în secvența bazelor azotate ale ADN-ului este rescrisă astfel încât aceeași informație să apară în secvența de baze a ARNm. Ca și în replicarea ADN-ului, un G în șablonul ADN dictează un C în ARNm care se face, un C în șablonul ADN dictează un G în ARNm, iar un T în șablonul ADN dictează un A în ARNm. Cu toate acestea, un A din șablonul ADN dictează un uracil (U) în ARNm, deoarece ARN-ul conține U în loc de T. (U are o structură chimică ușor diferită de T, dar se pereche de

baze în același mod.) Dacă, de exemplu, porțiunea șablon a ADN-ului are secvența de baze 3-ATGCAT, catena de ARNm nou sintetizată va avea secvența de bază complementară 5UA-CGUA.

Procesul de transcripție necesită atât o enzimă numită ARN polimerază, cât și un aport de nucleotide ARN (Figura 8.7). Transcripția începe atunci când ARN polimeraza se leagă de ADN într-un loc numit promotor. Doar una dintre cele două catene de ADN servește ca șablon pentru sinteza ARN pentru o anumită genă. La fel ca ADN-ul, ARN-ul este sintetizat în direcția 5' —> 3'. Sinteza ARN continuă până când ARN polimeraza ajunge la un loc al ADN-ului numit terminator.

Procesul de transcripție permite celulei să producă copii pe termen scurt ale genelor care pot fi folosite ca sursă directă de informații pentru sinteza proteinelor. ARN mesager acționează ca un

Poziția a doua

U C A

Figura 8.S Codul genetic. Cele trei nucleotide dintr-un codon ARNm sunt desemnate, respectiv, ca prima poziție, a doua poziție și a treia poziție a codonului pe ARNm. Fiecare set de trei nucleotide specifică un anumit aminoacid, reprezentat printr-o abreviere de trei litere (vezi Tabelul 2.5, pagina 42). Codonul AUG, care specifică aminoacidul metionină, este, de asemenea, începutul sintezei proteinelor. Cuvântul Stop identifică codonii nonsens care semnalează încetarea sintezei proteinelor.

Care este avantajul degenerării codului genetic?

intermediar între forma de stocare permanentă, ADN, și procesul care utilizează informația, traducerea, (mm)' Transcriere animații: Prezentare generală, Proces

Traducere

Am văzut cum informația genetică din ADN este transferată la ARNm în timpul transcripției. Acum vom vedea cum ARNm servește ca sursă de informații pentru sinteza proteinelor. Sinteza proteinelor se numește traducere deoarece implică decodificarea „limbajului" acizilor nucleici și convertirea acelei informații în „limbajul" proteinelor.

Limbajul ARNm este sub formă de codoni, grupuri de trei nucleotide, cum ar fi AUG, GGC sau AAA. Secvența de codoni de pe o moleculă de ARNm determină secvența de aminoacizi care vor fi în proteina sintetizată. Fiecare codon „codifică" un anumit aminoacid. Acesta este codul genetic (Figura 8.8).

Codonii sunt scriși în termenii secvenței lor de baze în ARNm. Observați că există 64 de codoni posibili, dar numai 20 de aminoacizi. Aceasta înseamnă că majoritatea aminoacizilor

sunt semnalați de mai mulți codoni alternativi, o situație denumită degenerarea codului. De exemplu, leucina are șase codoni, iar alanina are patru codoni. Degenerarea permite o anumită cantitate de schimbare, sau mutație, în ADN fără a afecta proteina produsă în cele din urmă.

Din cei 64 de codoni, 61 sunt codoni sens, iar 3 sunt codoni nonsens. Codonii sens codifică pentru aminoacizi, iar codonii nonsens (numiți și codoni stop) nu. Mai degrabă, codonii nonsens - UAA, UAG și UGA - semnalează sfârșitul sintezei moleculei de proteine. Codonul de început care inițiază sinteza moleculei proteice este AUG, care este, de asemenea, codonul formetionină, în oacterii, AUG de început codifică mai degrabă formil metionina decât metionina găsită în alte părți ale proteinei. Metionina inițială este adesea îndepărtată mai târziu, așa că nu toate proteinele conțin metionină.

Codonii ARNm sunt transformați în proteine prin procesul de translație. Codonii unui ARNm sunt „citiți” secvențial; și, ca răspuns la fiecare codon, aminoacidul corespunzător este asamblat într-un lanț în creștere. Locul de translație este ribozomul și moleculele de ARN de transfer (ARNt) recunosc codonii specifici și transportă aminoacizii necesari.

Fiecare moleculă de ARNt are un anticodon, o secvență de trei baze care este complementară unui codon. În acest fel, o moleculă de ARNt se poate pereche de baze cu codonul său asociat. Fiecare ARNt poate purta de asemenea la celălalt capăt aminoacidul codificat de codonul pe care ARNt-ul îl recunoaște. Funcțiile ribozomului sunt de a direcționa legarea ordonată a ARNt-urilor la codoni și de a asambla aminoacizii aduși acolo într-un lanț, producând în cele din urmă o proteină.

Figura 8.9 prezintă detaliile traducerii. Componentele necesare se asamblează: cele două subunități ribozomale, un ARNt cu anticodonul UAC și molecula de ARNm care trebuie tradus, împreună cu câțiva factori proteici suplimentari. 1 his setează codonul de pornire (AUG) în poziția corectă pentru a permite începerea traducerii. După ce ribozomul unește primii doi aminoacizi cu o legătură peptidică, prima moleculă de ARNt părăsește ribozomul. Ribozomul se deplasează apoi de-a lungul ARNm la următorul codon. Pe măsură ce aminoacizii corespunzători sunt aduși în linie unul câte unul, se formează legături peptidice între ei și rezultă un lanț polipeptidic. (Vezi Figura 2.14, pagina 44.) Traducerea se termină când se ajunge la unul dintre cei trei codoni nonsens din ARNm. Ribozomul se desprinde apoi în cele două subunități ale sale, iar ARNm și lanțul polipeptidic nou sintetizat sunt eliberate. Ribozomul, ARNm și ARNt-urile sunt apoi disponibile pentru a fi utilizate din nou.

Ribozomul se deplasează de-a lungul ARNm în direcția 5’ —> 3’. Pe măsură ce un ribozom se mișcă de-a lungul ARNm, va permite în curând expunerea codonului de început. Ribozomii suplimentari se pot asambla apoi și pot începe sintetiza proteinelor. În acest fel, există de obicei un număr de ribozomi atașați la un singur ARNm, toți în diferite stadii ale sintezei proteinelor. În celulele procariote, traducerea ARNm în proteine poate începe chiar înainte

traducerea poate începe înainte ca transcrierea să fie completă în transcrierea este completă (Figura 8D0). Deoarece ARNm este produs în citoplasmă, codonii de început ai unui ARNm care este transcris sunt disponibili pentru ribozomi chiar înainte ca întreaga moleculă de ARNm să fie fabricată.

În celulele eucariote, transcripția are loc în nucleu. ARNm trebuie să fie complet sintetizat și mutat prin membrana nucleară către citoplasmă înainte de a începe translația. În plus, ARN-ul este supus procesării înainte de a părăsi nucleul. În celulele eucariote, regiunile genelor care codifică proteine sunt adesea întrerupte de ADN-ul necodant. Astfel, genele eucariote sunt compuse din exoni, regiunile ADN-ului exprimate, și introni, regiunile intermediare ale ADN-ului care nu codifică proteine. În nucleu, ARN polimeraza sintetizează o moleculă numită transcript de ARN care conține copii ale intronilor. Particulele numite ribonucleoproteine nucleare mici, snRNP abreviate și „snurps” pronunțate, îndepărtează intronii și unesc exonii împreună. În unele organisme, intronii acționează ca ribozime pentru a-și cataliza propria îndepărtare (Figura 8.11).

x- X- X-

Pentru a rezuma, genele sunt unitățile de informații biologice codificate de secvența bazelor nucleotidice din ADN. O genă este exprimată sau transformată într-un produs în interiorul celulei, prin procesele de transcripție și traducere. Informația genetică transportată în ADN este transferată la o moleculă temporară de ARNm prin transcripție. Apoi, în timpul translației, ARNm direcționează ansamblul aminoacizilor într-un lanț polipeptidic: un ribozom se atașează de ARNm, ARNt-urile furnizează aminoacizii la ribozom așa cum este direcționat de secvența codonului ARNm, iar ribozomul adună aminoacizii în lanțul care va fi proteina nou sintetizată. Traducere animații: prezentare generală, cod genetic, proces

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care este rolul promotorului, terminatorului și ARNm în transcripție? 8-4

Cum diferă producția de ARNm la eucariote de procesul de la procariote? 8-5

Reglarea bacteriilor

Expresia genică

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

8-6 Definiți operon.

8-7 Explicați reglarea pre-transcripțională a expresiei genelor în bacterii.

3-8 Explicați reglarea post-transcripțională a expresiei genelor.

Mașinile genetice ale unui cel 1 și mașinile sale metabolice sunt integrate și interdependente. Amintiți-vă din capitolul 5 că celula bacteriană desfășoară un număr enorm de reacții metabolice. Caracteristica comună a tuturor reacțiilor metabolice este că

sunt catalizate de enzime. De asemenea, ne amintim din capitolul 5 (pagina 118) că inhibarea eedback-ului oprește o celulă să efectueze reacții chimice inutile.

Am văzut că genele, prin transcripție și traducere, direcționează sinteza proteinelor, dintre care multe servesc ca enzime - chiar enzimele folosite pentru metabolismul celular. Deoarece sinteza proteinelor necesită o cantitate imensă de energie, reglarea sintezei proteinelor este importantă pentru economia energetică a celulei. Celulele economisesc energie producând doar acele proteine necesare la un moment dat. În continuare, ne uităm la modul în care reacțiile chimice sunt reglate prin controlul sintezei enzimelor.

Multe gene, poate 60-80%, nu sunt reglementate, ci sunt în schimb constitutive, ceea ce înseamnă că produsele lor sunt în mod constant

produs la o rată fixă. De obicei, aceste gene, care sunt activate în mod eficient tot timpul, codifică enzimele de care celula are nevoie în cantități destul de mari pentru procesele sale majore de viață; enzimele glicolizei sunt exemple. „Producerea altor enzime este reglementată astfel încât acestea să fie prezente numai atunci când este nevoie. Trypanosoma, parazitul protozoar care provoacă boala somnului africană, are sute de gene care codifică glicoproteinele de suprafață. Fiecare celulă protozoară activează o singură genă de glicoproteină la un moment dat. Pe măsură ce sistemul imunitar al gazdei ucide paraziții cu un singur tip de moleculă de suprafață, paraziții care exprimă o glicoproteină de suprafață diferită pot continua să crească.

Controlul pre-transcripțional

Două mecanisme de control genetic cunoscute sub numele de represiune și inducție reglează transcripția ARNm și, în consecință, sinteza enzimelor din acestea. „Aceste mecanisme controlează formarea și cantitățile de enzime din celulă, nu activitățile enzimelor.

Represiune

„Mecanismul de reglementare care inhibă expresia genelor și scade sinteza enzimelor se numește represiune. Reprimarea este de obicei un răspuns la supraabundența unui produs final al unei căi metabolice; determină o scădere a vitezei de sinteză a enzimelor conducând la formarea acelui produs. Reprimarea este mediată de proteinele reglatoare numite represori, care blochează capacitatea ARN polimerazei de a iniția transcripția din genele reprimate. — Poziția implicită a unei gene represibile este activată.

Inducţie

„Procesul care activează transcripția unei gene sau genelor este inducția. O substanță care acționează pentru a induce transcripția unei gene se numește inductor, iar enzimele care sunt sintetizate în prezența inductorilor sunt enzime inductibile. Genele necesare pentru metabolismul lactozei în E. coli sunt un exemplu binecunoscut de sistem inductibil. Una dintre aceste gene codifică enzima p-galactozidaza, care împarte lactoza substratului în

două zaharuri simple, glucoză și galactoză, (0 se referă la tipul de legătură care unește glucoza și galactoza.) Dacă E. coli este plasată într-un mediu în care nu este prezentă lactoză, organismele nu conțin aproape nicio galactozidă; cu toate acestea, atunci când lactoză este adăugată în mediu, celulele bacteriene produc o cantitate mare de enzimă. Lactoza este convertită în celulă în compusul înrudit alolactoză, care este inductorul acestor gene; prezența lactozei determină astfel indirect celulele să sintetizeze mai multe enzime. — Poziția implicită a unei gene inductibile este

® Operoane de animații: Inducție, Reprimare

Modelul Operon al expresiei genelor

Detaliile privind controlul expresiei genelor prin inducție și represiune sunt descrise de modelul operon. Francois Jacob și Jacques Monod au formulat acest model general în 1961 pentru a explica reglarea sintezei proteinelor. Ei și-au bazat modelul pe studiile de inducție a enzimelor catabolismului lactozei în E. coli. Pe lângă 0-galactozidază, aceste enzime includ lac permeaza, care este implicată în transportul lactozei în celulă, și transacetilaza, care metabolizează anumite dizaharide, altele decât lactoza.

Urmărirea virusului West Nile

Pe 23 august 1999, un medic de boli infecțioase de la un spital din nordul Queens a contactat Departamentul de Sănătate al orașului New York (NYCDOH) pentru a raporta doi pacienți cu encefalită. La investigație, NYCDOH a identificat inițial un grup de șase pacienți cu encefalită. În același timp, oficialii locali din domeniul sănătății au observat o creștere a deceselor în rândul păsărilor din New York City. Nu au fost cultivate bacterii din sângele sau lichidul cefalorahidian al pacienților. Virușii transmisi de țânțari sunt o cauză probabilă a encefalitei aseptice în lunile de vară. Acești virusuri se numesc arbovirusuri. Arbovirusurile, transmise de artropode, sunt viruși care se mențin în natură prin transmitere biologică între gazde vertebrate susceptibile de către artropodele care se hrănesc cu sânge, cum ar fi țânțarii.

Secvențierea acidului nucleic a izolatelor de la păsări a fost efectuată la CDC pe 23 septembrie. Comparația secvențelor de acid nucleic cu bazele de date a indicat că virusurile erau strâns legate de virusul West Nile (WNV, vezi fotografia), care nu fusese niciodată izolat în emisfera vestică.

Până în 2007, WNV a fost găsit la păsări din toate statele, cu excepția Alaska și Hawaii. Până în 2009, CDC a considerat virusul West Nile endemic în Statele Unite. Recunoașterea WNV în emisfera vestică în vara anului 1999 a marcat prima introducere în istoria recentă a unui flavivirus din Lumea Veche în Lumea Nouă.

Virusul West Nile a fost izolat pentru prima dată în 1937 în districtul West Nile din Uganda. La începutul anilor 1950, oamenii de știință au recunoscut focarele de encefalită WNV la oameni în Egipt și Israel. Considerat inițial un arbovirus minor, WNV a apărut ca o preocupare majoră de sănătate publică și veterinară în sudul Europei, bazinul Mediteranei și America de Nord.

Cercetătorii s-au uitat la genomul virusului pentru a găsi indicii despre drumul său în jurul lumii. Genomul flavivirusului constă dintr-un ARN pozitiv, monocatenar, cu lungimea de 11.000 până la 12.000 de nucleotide. (ARN-ul pozitiv poate acționa ca ARNm și poate fi tradus.) Virusul a dobândit mai multe mutații, iar cercetătorii caută indicii în aceste mutații pentru a determina călătoria virusului.

Folosind porțiunile din genom (prezentate mai jos) care codifică proteine virale, puteți determina cât de similare sunt acești viruși? Îți poți da seama de mișcarea sa în jurul lumii?

Determinați aminoacizii codificați și grupați virușii pe baza procentului de similaritate cu tulpina Uganda.

Pe baza aminoacizilor, există două grupe numite clade.

Care grup este mai în vârstă?

Tulpinile nord-americane și australiene au acumulat mai multe mutații, așa că acestea ar trebui să fie mai recente.

Calculați procentul de diferență dintre nucleotide pentru a vedea cum sunt relaționați virușii în interiorul lor.

Deși pot fi observate grupuri sau clade înrudite genetic, călătoria reală a virusului rămâne evazivă.

Sursa: Adaptat din datele CDC.

Australia

Egipt

T.

Franţa

Israel

Italia

Kenya

Mexic

Statele Unite

Uganda

TTCGCGCACGCGCTCTCG

TC

T C

T C

T C

T C

T C

T C

T C

T C

AA

G A

G A

G A

G A

G A

G A

G A

C A

TT

T	C
T	C
T	T
T	T
T	T .
T	T
T	T
T	C

Genele pentru cele trei enzime implicate în absorbția și utilizarea lactozei sunt una lângă alta pe cromozomul bacterian și sunt reglate împreună (Figura 8.12). Aceste gene, care determină structurile proteinelor, sunt numite gene structurale pentru a le distinge de o regiune de control adiacentă a ADN-ului. Când lactoza este introdusă în mediul de cultură, genele structurale lac sunt toate transcrise și traduse rapid și simultan. Vom vedea acum cum apare această reglementare.

în regiunea de control a operonului lac sunt două segmente relativ scurte de ADN. Unul, promotorul, este regiunea ADN-ului

unde ARN polimeraza inițiază transcripția. Celălalt este operatorul, care este ca un semafor care acționează ca un semnal de mers sau oprire pentru transcrierea genelor structurale. Un set de situsuri operator și promotor și genele structurale pe care le controlează definesc * . - i.; ./us, combinația dintre cele trei gene structurale lac și regiunile de control adiacente se numește operon lac.

. gena regulatoare numită gena I codifică un represor pro... i. operonii inductibili și represibili sunt activați sau dezactivați. Operonul lac este un operon inductibil (vezi Figura 8.12). În absența lactozei, represorul se leagă de locul operatorului, prevenind astfel transcripția. Dacă este prezentă lactoză, represorul -S; ' /' -elimină lactoza în loc de către operator, iar enzimele care digeră lactoza sunt transcrise.

În operonii represibili, genele structurale sunt transcrise până când sunt oprite sau reprimate (Figura 8.13). Genele pentru enzimele implicate în sinteza triptofanului sunt reglate în acest mod. Genele structurale sunt transcrise și traduse, ducând la sinteza triptofanului. Când este prezent în exces triptofan, triptofanul acționează ca un corepresor care se leagă de proteina represoare, proteina represoare se poate lega acum de operator, oprind sinteza ulterioară a triptofanului. @ Operoane de animație: Prezentare generală

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

P Utilizați următoarea cale metabolică pentru a răspunde la întrebările care o urmează. 8-6*
'

enzimă a enzimă b

Substratul A > Intermediar > Produsul final C

Dacă enzima a este inductibilă și nu este sintetizată în prezent, a

proteinele trebuie să fie strâns legate de

site-ul. Când inductorul este prezent, acesta se va lega de

(3) astfel încât (4) să poată apărea.

Dacă enzima a este represibilă, produsul final C, numit a

(1) , face ca (2) să se lege de

. Ce cauzează derepresia?

Reglementare pozitivă

Reglarea operonului de lactoză depinde și de nivelul de glucoză din mediu, care, la rândul său, controlează nivelul intracelular al AMP ciclic cu molecule mici (cAMP), o substanță derivată din ATP care servește ca semnal de alarmă celular. Enzimele care metabolizează glucoza sunt constitutive, iar celulele cresc la viteza lor maximă cu glucoza ca sursă de

carbon, deoarece o pot folosi cel mai eficient (Figura 8.14). Când glucoza nu mai este disponibilă, cAMP se acumulează în celulă. AMPc se leagă de situsul alosteric al proteinei activatoare catabolice (CAP). CAP se leagă apoi de lac. promotor, care inițiază transcripția facilitând legarea ARN polimerazei de promotor. Astfel transcrierea operonului lac necesită atât prezența lactozei, cât și absența glucozei (Figura 8.15).   .

AMP ciclic este un exemplu de alarmonă, un semnal de alarmă chimic care promovează răspunsul celulei la stresul de mediu sau nutrițional. (În acest caz, stresul este lipsa de glucoză.)

^-galactozidaza

Represor inactiv, operon pornit. Când inductorul alolactoza se leagă de proteina represoare, represorul inactivat nu mai poate bloca transcripția. Genele structurale sunt transcrise, rezultând în cele din urmă producția de enzime necesare pentru catabolismul lactozei.

Figura I 3.1; Un operon inductibil. Enzimele care digeră lactoza sunt produse în prezența lactozei. La E. coli, genele pentru cele trei enzime se află în operonul lac. 0-galactozidaza este codificată de lacZ. Gena lacY codifică permeaza lac, iar lacA codifică transacetilaza, a cărei funcție în metabolismul lactozei este încă neclară.

determină transcrierea unui inductibil

Represor activ, operonul oprit. Când triptofanul corepresor se leagă de proteina represoare, represorul activat se leagă de operator, împiedicând transcripția din operon.

Figura .13 Un operon represibil. Triptofanul, un aminoacid, este produs de enzimele anabolice codificate de cinci gene structurale. Acumularea de . triptofanul reprimă transcripția acestor gene, împiedicând sinteza ulterioară a triptofanului. Operonul E coli trp este prezentat aici.   .

Jz... Ce cauzează transcrierea unei enzime represibile?

(b) Bacteriile care cresc într-un mediu care conține glucoză și lactoză consumă mai întâi glucoza și apoi, după un timp scurt de întârziere, lactoza. În timpul de întârziere, cAMP intracelular crește, operonul lac este transcris, mai multă lactoză este transportată în celulă și 0-galactozidaza este sintetizată pentru a descompune lactoza.

Figura 8.14 Rata de creștere a E. coli pe glucoză și lactoză.

EO Când atât glucoza, cât și lactoza sunt prezente, de ce celulele vor folosi mai întâi glucoza?

Același mecanism care implică cAMP permite celulei să crească pe alte zaharuri. Inhibarea metabolismului surselor alternative de carbon de către glucoză se numește reprimare a cataboliților (sau efectul glucozei). Când glucoza este disponibilă, nivelul de cAMP din celulă este scăzut și, în consecință, CAP nu este legat.

Controlul epigenetic

Celulele eucariote și bacteriene pot opri genele prin metilarea anumitor nucleotide. Genele metilate (off) sunt transmise celulelor descendenți. Spre deosebire de mutații, acest lucru nu este permanent, iar genele pot fi activate într-o generație ulterioară. Aceasta se numește moștenire epigenetică (epigenetică = pe gene). Epigenetica poate explica de ce bacteriile se comportă diferit într-un biofilm (vezi caseta de la pagina 56).

Control post-transcnțional

Unele mecanisme de reglare opresc sinteza proteinelor după ce a avut loc transcripția. Moleculele de ARN monocatenar de aproximativ 22 de nucleotide, numite microARN (miARN), inhibă producția de proteine în celulele eucariote. La om, miARN-urile produse în timpul dezvoltării permit diferitelor celule

Va avea loc transcrierea operonului lac în prezența lactozei și a glucozei? În prezența lactozei și absența glucozei? În prezența glucozei și absența lactozei?

produc proteine diferite. Celulele inimii și celulele pielii au aceleași gene, dar celulele din fiecare organ produc proteine diferite din cauza miARN-urilor produse în fiecare tip de celulă în timpul dezvoltării. ARN-uri scurte similare din bacterii permit celulei să facă față stresului de mediu, cum ar fi temperatura scăzută sau deteriorarea oxidativă. O pereche de baze miARN cu un ARNm complementar, formând un ARN dublu standard. Acest ARN dublu standard este distrus enzimatic, astfel încât proteina codificată de ARNm să nu fie produsă (Figura 8.16). Acțiunea unui alt tip de ARN, siARN, este similară și este discutată la pagina 258.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Care este rolul cAMP în reglarea expresiei genelor? 8-7

Cum oprește miRNA sinteza proteinelor? 8-8

Mutație: modificarea materialului genetic

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

8-9 Clasificați mutațiile după tip.

8-10 Descrieți două moduri în care mutațiile pot fi reparate.

8-11 Descrieți efectul mutagenilor asupra ratei mutațiilor.

8-12 Subliniați metodele de selecție directă și indirectă a mutanților.

8-13 Identificați scopul și schițați procedura pentru testul Ames.

O mutație este o schimbare permanentă a secvenței de baze a ADN-ului. O astfel de modificare a secvenței de bază a unei gene va determina uneori o schimbare a produsului codificat de acea genă. De exemplu, atunci când gena pentru o enzimă suferă mutații, enzima codificată de genă poate deveni inactivă sau mai puțin activă, deoarece secvența sa de aminoacizi s-a schimbat. O astfel de schimbare a genotipului poate fi dezavantajoasă, sau chiar letală, dacă celula pierde un

Când ARNm este transcris din ADN-ul care conține această substituție, se produce un codon care, în timpul translației, codifică un aminoacid diferit: tirozină în loc de cisteină.

ARNm

Transcriere

Aminoacizi; Cisteina:

cisteina

Cisteina Î

Traducere

Figura 8.17 Substituții de bază. Această mutație duce la o proteină alterată într-o celulă nepoată.

O substituție de bază duce întotdeauna la un aminoacid diferit?

trăsătura fenotipică de care are nevoie. Cu toate acestea, o mutație poate fi benefică dacă, de exemplu, enzima modificată codificată de gena mutantă are o activitate nouă sau îmbunătățită care aduce beneficii celulei.

Multe mutații simple sunt silențioase (neutre); modificarea secvenței bazelor ADN nu provoacă nicio modificare a activității produsului codificat de genă. Mutațiile silențioase apar în mod obișnuit atunci când o nucleotidă este înlocuită cu alta în ADN, în special într-o locație care corespunde celei de-a treia poziții a codonului ARNm. Din cauza degenerării codului genetic, noul codon rezultat ar putea încă codifica același aminoacid. Chiar dacă aminoacidul este schimbat, funcția proteinei poate să nu se schimbe dacă aminoacidul se află într-o porțiune nevitală a proteinei sau este foarte asemănător din punct de vedere chimic cu aminoacidul original.

Tipuri de mutații

Cel mai comun tip de mutație care implică perechi de baze individuale este substituția de baze (sau mutația punctuală), în care o singură bază într-un punct al secvenței ADN este înlocuită cu o bază diferită. Când ADN-ul se replic, rezultatul este o bază substituită

pereche (Figura 8.17). De exemplu, AT poate fi înlocuit cu GC sau CG cu GO. Dacă o substituție de bază are loc în cadrul unei gene . . -indicii .sau o proteină, ARNm transcris din genă va purta o bază incorectă în acea poziție. Când ARNm este tradus în proteină, baza incorectă poate provoca inserarea unui aminoacid incorect în proteină. Dacă substituția bazei are ca rezultat o substituție a aminoacizilor în proteina sintetizată, această modificare a ADN-ului este cunoscută ca o mutație missense (Figura 8.18a și Figura 8.18b).

Efectele unor astfel de mutații pot fi dramatice. De exemplu, boala cu celule falciforme este cauzată de o singură modificare a genei globinei, componenta proteică a hemoglobinei. Hemoglobina este responsabilă în primul rând pentru transportul oxigenului de la plămâni la țesuturi. O singură mutație missense, o schimbare de la un A la un I la un loc specific, are ca rezultat schimbarea de la acid glutamic la valină în proteină. Efectul acestei modificări este că forma moleculei de hemoglobină se schimbă în condiții de oxigen scăzut, modificând forma celulelor roșii din sânge, astfel încât mișcarea celulelor prin capilarele mici este foarte împiedicată.

Prin crearea unui codon nonsens (stop) în mijlocul unei molecule de ARNm, unele substituții de bază împiedică eficient sinteza unei proteine funcționale complete; este sintetizat doar un fragment. O substituție de bază care are ca rezultat un codon nonsens se numește astfel o mutație nonsens (Figura 8.18c).

Pe lângă mutațiile perechilor de baze, există și modificări ale ADN-ului numite mutații frameshift, în care una sau câteva perechi de nucleotide sunt șterse sau inserate în ADN

(Figura 8.18d). Această mutație poate schimba „cadru de citire translațional” – adică gruparea de trei câte trei de nucleotide recunoscute ca codoni de ARNt în timpul traducerii. De exemplu, ștergerea unei perechi de nucleotide în mijlocul unei gene determină modificări în mulți aminoacizi în aval de locul mutației originale. Mutațiile frameshift au ca rezultat aproape întotdeauna o lungă perioadă de aminoacizi modificați și producerea unei proteine inactive din gena mutantă. În cele mai multe cazuri, un codon fără sens va fi întâlnit în cele din urmă și, prin urmare, va termina traducerea.

Ocazional, apar mutații atunci când un număr semnificativ de baze sunt adăugate (inserate într-o) genă. Boala Huntington, de exemplu, este o tulburare neurologică progresivă cauzată de baze suplimentare introduse într-o anumită genă.

Substituțiile de baze și mutațiile de schimbare a cadrelor pot apărea spontan din cauza greșelilor ocazionale făcute în timpul replicării ADN-ului. Aceste mutații spontane apar aparent în absența oricăror agenți care cauzează mutații. Agenții din mediu, cum ar fi anumite substanțe chimice și radiații, care provoacă mutații direct sau indirect, sunt numiți mutageni. În lumea microbiană, anumite mutații duc la rezistență la antibiotice (vezi caseta din capitolul 26, pagina 757).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum poate fi benefică o mutație? 8-9

(a) Nucleozidul de adenozină se formează în mod normal prin legături de hidrogen cu un oxigen și un hidrogen al unei nucleotide de timină sau uracil.

ADN părinte normal   ADN părinte alterat

(b) Adenina modificată se asociază cu citozina în loc de timină.

ADN normal al fiicei

ADN-ul nepoatei modificat

Figura 8.19 Oxidarea nucleotidelor produce un mutagen. Acidul azot emis în aer prin arderea combustibililor fosili oxidează adenina.

este un mutagen?

Caz clinic

ADN-ul unei persoane poate suferi mutații. O nucleotidă necorespunzătoare din ADN creează o mutație, care ar putea modifica funcția genei. Cancerul este o creștere anormală a celulelor cauzată de mutații. Aceste mutații pot fi moștenite.

În timp ce Marcel și soția sa, Janice, conduc acasă de la cabinetul medicului, ei revizuiesc istoria familiei lui Marcel. Fratele lui Marcel, Robert, a murit de cancer de colon în urmă cu 10 ani, dar Marcel a fost întotdeauna tabloul sănătății. Chiar și la 70 de ani, nu s-a gândit să se retragă de la restaurantul său de grătar din Memphis, pe care l-a deținut cândva împreună cu fratele său, până la moartea lui Robert.

Ce factori ar fi putut contribui la cancerul de colon al lui Marcel?

Mutageni

Mutageni chimici

Una dintre multele substanțe chimice cunoscute a fi mutagene este acidul azotat. Figura 8.19 arată modul în care expunerea ADN-ului la acidul azot poate transforma baza adeninei (A) într-o formă care nu se mai asociază cu timina (T), ci se împerechează cu citozina (C). Când ADN-ul care conține astfel de adenine modificate se repetă, o moleculă de ADN fiică va avea o secvență de pereche de baze diferită de cea a ADN-ului părinte. În cele din urmă,

unele perechi de baze AT ale părintelui ' 1 • e au fost schimbate în perechi de baze GC într-o celulă nepoată. Acidul azot produce o modificare specifică a perechii de baze în ADN. Ca toți mutagenii, modifică ADN-ul în locații aleatorii.

Un alt tip de mutagen chimic este analogul nucleozidic. Aceste molecule sunt similare din punct de vedere structural cu utilizările normale de azot, dar au proprietăți de împerechere a bazelor ușor modificate. Lxa npies, 2-aminopurina si 5-bromoracil, sunt prezentate in e8). Când analogii nucleozidici sunt administrați celulelor în creștere, analogii sunt încorporați aleatoriu în ADN-ul celular în locul bazelor normale. Apoi, în timpul replicării ADN-ului, analogii provoacă greșeli în împerecherea bazelor. Împereche incorect

Figura 8.2C Analogii nucleozidici și bazele azotate pe care le înlocuiesc. O nucleozidă este fosforilată, iar nucleotida rezultată este folosită pentru a sintetiza ADN-ul.

Baza azotata normala

Analogic

a.1

De ce aceste medicamente ucid celulele?

Adenină nucleozidă 2-Aer.inopurină nucleozidă

(şO 2-aminopurina este încorporată în ADN în locul adeninei, dar se poate împerechea cu citozină, astfel încât o pereche AT devine o pereche CG.

5-Bromouracil nucleozid

(b) 5-bromouraci este utilizat ca medicament anticancer deoarece este confundat cu timină de către enzimele celulare, dar se asociază cu citozina. În următoarea replicare a ADN-ului, o pereche AT devine o pereche GO.

bazele vor fi copiate în timpul replicării ulterioare a ADN-ului, rezultând substituții de perechi de baze în celulele descendenți. Unele medicamente antivirale și antitumorale sunt analogi nucleozidici, inclusiv AZT (azidotimidină), unul dintre medicamentele principale utilizate pentru tratarea infecției cu HIV.

Încă alți mutageni chimici provoacă mici ștergeri sau inserții, care pot duce la deplasări de cadre. De exemplu, în anumite condiții, benzopirenul, care este prezent în fum și funingine, este un mutagen frameshifi eficient. Aflatoxina - produsă de Aspergillus Jlavus (a-sper-jil'lus flă'vus), un mucegai care crește pe alune și cereale - este un mutagen de schimbare a cadrelor, la fel ca și coloranții acridină utilizați experimental împotriva infecțiilor cu herpesvirus. Mutagenii Frameshift au de obicei dimensiunea și proprietățile chimice potrivite pentru a se aluneca între perechile de baze stivuite ale dublei helix ADN. Ele pot funcționa prin compensarea ușoară a celor două catene de ADN, lăsând un gol sau o umflătură într-o catenă sau alta. Când catenele de ADN eșalonate sunt copiate în timpul sintezei ADN, una sau mai multe perechi de baze pot fi inserate sau șterse în noul ADN dublu catenar. Interesant este că mutagenii de schimbare a cadrelor sunt adesea cancerigeni puternici.

Radiația

Razele X și razele gamma sunt forme de radiații care sunt mutagene puternice datorită capacității lor de a ioniza atomii și moleculele. „Razele penetrante ale radiațiilor ionizante fac ca electronii să iasă din învelișul lor obișnuit (vezi capitolul 2). Acești electroni bombardează alte molecule și provoacă mai multe daune, iar mulți dintre ionii și radicalii liberi rezultați (fragmente moleculare cu electroni nepereche) sunt foarte reactivi. Unii dintre acești ioni oxidează bazele din ADN, ducând la erori în replicarea și repararea ADN-ului care produc mutații (vezi Figura 8.19). Un rezultat și mai grav este ruperea legăturilor covalente din coloana vertebrală zahăr-fosfat a ADN-ului, care provoacă rupturi fizice ale cromozomilor.

O altă formă de radiație mutagenă este lumina ultravioletă (UV), o componentă neionizantă a luminii solare obișnuite. Cu toate acestea, cea mai mutagenă componentă a luminii UV (lungime de undă 260 nm) este ecranată de stratul de ozon al atmosferei. Cel mai important efect al luminii UV directe asupra ADN-ului este formarea de legături covalente dăunătoare între anumite baze. Timinele adiacente dintr-o catenă de ADN se pot reticula pentru a forma dimeri de timină. Astfel de dimeri, cu excepția cazului în care sunt reparați, pot provoca daune grave sau moartea celulei, deoarece nu poate transcrie sau replica corect un astfel de ADN.

Bacteriile și alte organisme au enzime care pot repara daunele induse de UV. Fotoliazele, cunoscute și sub numele de enzime de reparare a luminii, folosesc energia luminii vizibile pentru a separa dimerul înapoi de cele două timine originale. Repararea exciziei

nucleotidelor, prezentată în Figura 8.21, nu se limitează la daune induse de UV; poate repara mutații și din alte cauze. Enzimele decupează baza incorectă și completează golul cu ADN nou sintetizat, care este complementar cu catena corectă. Timp de mulți ani, biologii s-au întrebat cum ar putea fi distinsă baza incorectă de baza corectă dacă nu a fost distorsionată fizic ca un dimer de timină. În 1970, Hamilton Smith a oferit răspunsul prin descoperirea metilazelor. Aceste enzime adaugă o grupare metil la bazele selectate imediat după ce se formează o catenă de ADN. O endonuclează de reparare taie apoi catena nemetilată.

Expunerea la lumină UV la oameni, cum ar fi bronzarea excesivă, provoacă un număr mare de dimeri de timină în celulele pielii. Dimerii nereparați pot duce la cancer de piele. Oamenii

Frecvența mutațiilor

Rata de mutație este probabilitatea ca o genă să sufere mutații atunci când o celulă se divide. Rata este de obicei exprimată ca o putere de 10 și, deoarece mutațiile sunt foarte rare, exponentul este întotdeauna un număr negativ. De exemplu, dacă există o șansă din 10.000 ca o genă să sufere mutații atunci când celula se divide, rata mutației este de 1/10.000, care este exprimată ca 10-4. Greșelile spontane în replicarea ADN-ului apar la o rată foarte scăzută, poate doar o dată la 109 perechi de baze replicate (o rată de mutație de 109). Deoarece gena medie are aproximativ 103 perechi de baze, rata spontană de mutație este de aproximativ una din 106 (un milion) gene replicate.

Mutațiile apar de obicei mai mult sau mai puțin aleatoriu de-a lungul unui cromozom. Apariția mutațiilor aleatoare la frecvență scăzută este un aspect esențial al adaptării speciilor la mediul lor, deoarece evoluția necesită ca diversitatea genetică să fie generată aleatoriu și cu o rată scăzută. De exemplu, într-o populație bacteriană de dimensiuni semnificative - să zicem, mai mare de 107 celule - câteva celule mutante noi vor fi întotdeauna produse în fiecare generație. Majoritatea mutațiilor fie sunt dăunătoare și probabil să fie eliminate din grupul de gene atunci când celula individuală moare, fie sunt neutre. Cu toate acestea, câteva mutații pot fi benefice. De exemplu, o mutație care conferă rezistență la antibiotice este benefică unei populații de bacterii care sunt expuse în mod regulat la antibiotice. <)Odată ce o astfel de trăsătură a apărut prin mutație, celulele care poartă gena mutantă au mai multe șanse decât alte celule să supraviețuiască și să se reproducă atâta timp cât mediul rămâne același. În curând, majoritatea celulelor din populație vor avea gena; se va fi produs o schimbare evolutivă, deși la scară mică.

Un mutagen crește de obicei rata de mutație spontană, care este de aproximativ una din 106 gene replicate, cu un factor de 10 până la 1000 de ori. Cu alte cuvinte, în prezența unui mutagen, rata normală de 10 *' mutații pe genă replicată devine o rată de ■ până la 10 3 per genă replicată. Mutagenii sunt utilizați experimental pentru a îmbunătăți producția de celule mutante pentru cercetarea proprietăților genetice ale microorganismelor și în scopuri comerciale. Mutații de animații: tipuri, reparații

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum pot fi reparate mutațiile? 8-10

Cum afectează mutagenii rata de mutație? 8-11

Identificarea mutanților

Mutanții pot fi detectați prin selectarea sau testarea unui pnvf alterat o - Indiferent dacă este utilizat sau nu un mutagen, celulele mutante cu mutații specifice sunt întotdeauna rare în comparație cu alte celule din populație. Problema este detectarea unui astfel de eveniment rar.

Experimentele sunt de obicei efectuate cu bacterii, deoarece se reproduc rapid, astfel încât un număr mare de organisme (mai mult de 10 pe mililitru de bulion nutritiv) pot fi utilizate cu ușurință. În plus, deoarece bacteriile au în general o singură copie a fiecărei gene pe celulă, efectele unei gene mutante nu sunt mascate.

Mâner

Suprafata de catifea - (sterilizata)

Catifea sterilă este presată pe coionii crescuți de pe placa principală. fl

Placă principală cu mediu care conține histidină

Q Celulele din fiecare colonie
sunt transferate din
catifea pe plăci noi.

Placa Petri cu

_mediu conținând SO) Plăcile sunt incubate, histidină

v;

Mutant auxotrofic

Colonie dispărută

Placă Petri cu mediu lipsit de histidină

Se compară creșterea pe plăci. O colonie care crește pe mediu cu histidină, dar care nu ar putea crește pe mediu fără histidină este auxotrofică. (mutant care necesită histidină).

Figura 8.22 Placare replica. În acest exemplu, mutantul auxotrofic nu poate sintetiza histidina. Plăcile trebuie marcate cu atenție (cu un X aici) pentru a menține orientarea, astfel încât pozițiile coloniilor să fie cunoscute în raport cu placa principală originală.

ai Ce este un auxotrop?

prin prezența unei versiuni normale a genei, ca în multe organisme eucariote.

Selecția pozitivă (directă) implică detectarea celulelor mutante prin respingerea celulelor părinte nemutate. De exemplu, să presupunem că am încercat să găsim bacterii mutante care sunt rezistente la penicilină. Când celulele bacteriene sunt placate pe un mediu care conține penicilină, mutantul poate fi identificat direct. Puținele celule din populație care sunt rezistente (mutante) vor crește și vor forma colonii, în timp ce celulele parentale normale, sensibile la penicilină nu pot crește.

.

Pentru a identifica mutațiile în alte tipuri de gene, poate fi utilizată selecția negativă (indirectă). Acest proces selectează o celulă care nu poate îndeplini o anumită funcție, folosind tehnica de placare cu replici. De exemplu, să presupunem că dorim să folosim placarea cu replica pentru a identifica o celulă bacteriană care și-a pierdut capacitatea de a sintetiza aminoacidul histidină (Figura 8.22). Mai întâi, aproximativ 100 de celule bacteriene sunt inoculate pe o placă de agar. Această placă, numită placa principală, conține un mediu cu histidină pe care vor crește toate celulele. După 18 până la 24 de ore de incubație, fiecare celulă se reproduce pentru a forma o colonie. Apoi, un tampon de material steril, cum ar fi latex, hârtie de filtru sau catifea, este presat peste placa principală, iar unele dintre celulele din fiecare colonie aderă la catifea. Apoi, catifea este presată în jos pe două (sau mai multe) plăci sterile. O placă conține un mediu fără histidină, iar una conține un mediu cu histidină pe care se pot dezvolta bacteriile originale, nemutante. Orice colonie care crește pe mediu cu histidină pe placa principală, dar care nu își poate sintetiza propria histidină nu va putea crește pe mediu fără histidină. Colonia mutantă poate fi apoi identificată pe placa principală. Desigur, deoarece mutanții sunt atât de rari (chiar și cei induși de mutageni), multe plăci trebuie verificate cu această tehnică pentru a izola un anumit mutant.

Placarea cu replica este un mijloc foarte eficient de izolare a mutanților care necesită unul sau mai mulți factori de creștere noi. Orice microorganism mutant care are o cerință nutrițională care este absentă la părinte este cunoscut sub numele de auxotrof. De exemplu, unui auxotrof poate lipsi o enzimă necesară pentru a sintetiza un anumit

Controla

(nu a fost adăugat niciun mutagen suspectat)

„Sunt preparate două culturi de bacterii Salmonella care și-au pierdut capacitatea de a sintetiza histidină (dependentă de histidină).

Figura 8.23 Testul Ames de mutație genică inversă.

Toți mutagenii provoacă cancer?

aminoacid și, prin urmare, va necesita acel aminoacid ca factor de creștere în mediul său nutritiv.

Identificarea substanțelor cancerigene chimice

S-a descoperit că mulți mutageni cunoscuți sunt cancerigeni, substanțe care provoacă cancer la animale, inclusiv la oameni. În ultimii ani, substanțele chimice din mediu, locul de muncă și dieta au fost implicate ca cauze ale cancerului la oameni. Subiecții obișnuiți ai testelor pentru determinarea potențialilor cancerigeni sunt animalele, iar procedurile de testare sunt consumatoare de timp și costisitoare. Acum există proceduri mai rapide și mai puțin costisitoare pentru screeningul preliminar al potențialilor cancerigeni. Unul dintre acestea, numit testul Ames, folosește bacteriile ca indicatori cancerigeni.

Testul Ih Ames se bazează pe observația că expunerea bacteriilor mutante la substanțe mutagene poate provoca noi mutații care inversează efectul (modificarea fenotipului) mutației originale. Acestea se numesc reversiuni. Mai exact, testul măsoară reversia auxotrofilor histidinei ai Salmonella (celule hisy, mutante care și-au pierdut capacitatea de a sintetiza histidina) la celulele care sintetizează histidină (his4) după tratamentul cu un mutagen ( ). Bacteriile sunt incubate atât în prezență, cât și în ab

sensul substanței testate. Deoarece enzimele animale trebuie să activeze multe substanțe chimice în forme care sunt reactive chimic pentru a apărea activitate mutagenă sau carcinogenă, substanța chimică care trebuie testată și bacteriile mutante sunt incubate împreună cu extract de ficat de șobolan, o sursă bogată de enzime de activare. Dacă substanța testată este mutagenă, aceasta va provoca refacerea bacteriilor sale la bacteriile sale la o rată mai mare decât rata de reversare spontană. Numărul de revertanți observați indică gradul în care o substanță este mutagenă și, prin urmare, posibil cancerigenă.

Poate pot fi folosit în multe feluri. Mai mulți potențiali mutageni pot fi testați calitativ prin reperarea substanțelor chimice individuale pe discuri mici de hârtie pe o singură placă inoculată cu . < ■ ial . Testul Ames este utilizat în mod obișnuit pentru a evalua noi substanțe chimice și poluanții din aer și apă.

Aproximativ 90% dintre substanțele găsite prin testul Ames ca fiind mutagene s-au dovedit, de asemenea, a fi cancerigene la animale. În același mod, cu cât substanțele mai mutagene s-au dovedit, în general, a fi mai cancerigene.

@ ADN-ul dintr-o celulă se aliniază cu ADN-ul din celula primitoare. Observați că există o nick în ADN-ul donatorului.

ADN-ul din dono- se aliniază cu perechile de baze complementare din cromozomul receptorului. Aceasta poate implica mii de perechi de baze.

ale proteinei flagelare, acele organisme care produc a doua nu sunt afectate. Care proteină flagelară este produsă este determinată de un eveniment de recombinare care apare oarecum aleatoriu în ADN-ul cromozomial. Astfel, prin modificarea proteinei flagelare produse, Salmonella poate evita mai bine apărarea gazdei.

Transferul genic vertical are loc atunci când genele sunt transmise de la un organism la descendenții săi. Plantele și animalele își transmit genele prin transmisie verticală. Bacteriile își pot transmite genele nu numai descendenților, ci și lateral, altor microbi din aceeași generație. Acest lucru este cunoscut sub numele de transfer orizontal al genelor (vezi Figura 8.2). Transferul orizontal de gene între bacterii are loc în mai multe moduri. În toate mecanismele, transferul implică o celulă donatoare care dă o parte din ADN-ul său total unei celule primitoare. Odată transferată, o parte din ADN-ul donatorului este de obicei încorporată în ADN-ul primitorului; restul este degradat de enzimele celulare. Celula primitoare care încorporează ADN-ul donor în propriul său ADN se numește recombinant. transferul de material genetic între bacterii nu este în niciun caz un eveniment frecvent; poate apărea la numai 1% sau mai puțin dintr-o populație întreagă. Să examinăm în detaliu tipurile specifice de transfer genetic, (mm)" Animație Transfer gene orizontal: Prezentare generală

Transformarea în bacterii

În timpul procesului de transformare, genele sunt transferate de la o bacterie la alta ca ADN „gol” în soluție. Acest proces a fost demonstrat pentru prima dată în urmă cu peste 70 de ani, deși nu a fost înțeles la acea vreme. Nu numai că transformarea a arătat că materialul genetic poate fi transferat de la o celulă bacteriană la alta, dar studiul acestui fenomen a condus în cele din urmă la concluzia că ADN-ul este materialul genetic. Experimentul inițial de transformare a fost efectuat de Frederick Griffith în Anglia în 1928, în timp ce lucra cu două tulpini de Streptococcus pneumoniae. Una, o tulpină virulentă (patogenă), are o capsulă polizaharidă care previne fagocitoza. Bacteriile cresc și provoacă pneumonie. Cealaltă, o tulpină avirulentă, îi lipsește capsula și nu provoacă boli.

Griffith a fost interesat să determine dacă injecțiile cu bacterii ucise de căldură ale tulpinii încapsulate ar putea fi folosite pentru a vaccina șoarecii împotriva pneumoniei. După cum se aștepta, injecțiile cu bacterii vii încapsulate au ucis șoarecele (Figura 8.25a); injecțiile de bacterii vii neîncapsulate (Figura 8.25b) sau bacterii încapsulate moarte (Figura 8.25c) nu au ucis șoarecele. Cu toate acestea, atunci când bacteriile încapsulate moarte au fost amestecate cu bacterii vii neîncapsulate și injectate în șoareci, mulți dintre șoareci au murit. În sângele șoarecilor morți, Griffith a găsit bacterii vii, încapsulate. Materialul ereditar

(genele) de la bacteriile moarte a intrat în celulele vii și le-a schimbat genetic, astfel încât descendenții lor au fost încapsulați și, prin urmare, virulenți (Figura 8.25d).

Investigațiile ulterioare bazate pe cercetările lui Griffith au arătat că transformarea bacteriană ar putea fi efectuată fără șoareci. Un bulion a fost inoculat cu bacterii vii neîncapsulate. Bacteriile încapsulate moarte au fost apoi adăugate în bulion. După incubare, s-a descoperit că cultura conține bacterii vii care au fost încapsulate și virulente. Bacteriile neîncapsulate fuseseră transformate; ei dobândiseră o nouă trăsătură ereditară prin încorporarea genelor din bacteriile încapsulate ucise.

Următorul pas a fost extragerea diferitelor componente chimice din celulele ucise pentru a determina care componentă a cauzat transformarea. Aceste experimente cruciale au fost efectuate în Statele Unite de către Oswald T. Avery și asociații săi Colin M. MacLeod și Maclyn McCarty. După ani de cercetări, ei au anunțat în 1944 că componenta responsabilă cu transformarea inofensive a S. pneumoniae în tulpini virulente este ADN-ul. Rezultatele lor au oferit unul dintre indicii concludente că ADN-ul era într-adevăr purtător de informații genetice.

De pe vremea experimentului lui Griffith, au fost adunate informații considerabile despre transformare. În natură, unele bacterii, poate după moarte și liza celulară, își eliberează

Caz clinic rezolvat

Testul Ames permite screening-ul rapid al substanțelor chimice pentru genotoxicitate. Bacteriile his-mutante Salmonella utilizate în testul Ames sunt răspândite pe plăci de agar cu săruri minime de glucoză. Un disc de hârtie saturat cu 2-aminofluoren (2-AF), .

o amină aromatică, este plasată pe cultură. Figura, de exemplu, arată că inversarea his-mutației a permis Salmonella să crească. Acest lucru indică faptul că substanța chimică este mutagenă și, prin urmare, este potențial cancerigen.

Există studii care indică faptul că 2-AF activat de enzime este mai dăunător decât 2-AF singur, sugerând că interacțiunea dintre dietă și microbiota intestinală este mai probabil să provoace cancer decât doar dieta. Variațiile în dietă produc puține schimbări în tipurile de bacterii din intestin, dar

-y ; ! <>ducă schimbări dramatice în activitatea metabolică a bacteriilor.

Detectarea ionului polipilor colorectali zimțați din

•' ■''v: s stoc testul ADN a condus la un diagnostic precoce, . mai degrabă decât cancerul tardiv, stadiul sau colorectal. Polipii infractor sunt găsiți și îndepărtați, iar Marcel trece

hemoterapie pentru a ucide orice celule canceroase ratate din colonul său.

ADN-ul în mediu. Alte bacterii pot întâlni apoi ADN-ul și, în funcție de specia particulară și de condițiile de creștere, preia fragmente de ADN și le integrează în propriii lor cromozomi prin recombinare. O proteină numită RecA (vezi Figura 3.11a, pagina 64) se leagă de ADN-ul celulei și apoi de ADN-ul donor provocând schimbul de fire. O celulă primitoare cu această nouă combinație de gene este un fel de celulă hibridă sau recombinantă (Figura 8.26). Toți descendenții unei astfel de celule recombinate vor fi identici cu ea. Transformarea are loc în mod natural printre foarte puține genuri de bacterii, inclusiv Bacillus, Haemophilus (he-ma' fi-lus), Neisseria, Acinetobacter (un sin-e-to-bak-ter) și anumite tulpini din genurile Streptococcus și Staphylococcus.

Chiar dacă doar o mică parte din ADN-ul unei celule este transferată la destinatar, molecula care trebuie să treacă prin peretele celular și membrana receptorului este încă foarte mare. Când o celulă primitoare se află într-o stare fiziologică în care poate prelua ADN-ul donatorului, se spune că este competentă. Competența rezultă din modificări ale peretelui celular care îl fac permeabil la moleculele mari de ADN, (mm) Animație Transformare

pe de enzimă taie ADN-ul donatorului?

Conjugarea în Bacter a

Un alt mecanism prin care materialul genetic este transferat de la o bacterie la alta este cunoscut sub numele de conjugare. Conjugarea este mediată de un fel de plasmidă, o bucată circulară de ADN care se replică independent de cromozomul celulei (discutat la pagina 235). Cu toate acestea, plasmidele diferă de cromozomii bacterieni prin faptul că genele pe care le poartă nu sunt de obicei esențiale pentru creșterea celulei în condiții normale. Plasmidele responsabile de conjugare sunt transmisibile între celule în timpul conjugării.

Conjugarea diferă de transformare în două moduri majore. În primul rând, conjugarea necesită contact direct de la celulă la celulă. În al doilea rând, celulele de conjugare trebuie să fie în general de tip de împerechere opus; celulele donatoare trebuie să poarte plasmida, iar celulele primitoare, de obicei, nu. În bacteriile gram-negative, plasmida poartă gene care codifică sinteza pililor sexuali, proiecții de la suprafața celulei donatoare care contactează receptorul și ajută la punerea celor două celule în contact direct (Figura 8.27a). Celulele bacteriene Gram-pozitive produc molecule de suprafață lipicioase care provoacă contactul direct între ele. În procesul de conjugare, plasmida este replicată în timpul transferului unei copii monocatenar a ADN-ului plasmidei către receptor, unde catena complementară este sintetizată (Figura 8.27b).

Deoarece majoritatea lucrărilor experimentale privind conjugarea au fost făcute cu E. coli, vom descrie procesul din acest organism. La E. coli, factorul F (factor de fertilitate) a fost prima plasmidă observată a fi transferată între celule în timpul conjugării. Donatorii purtători de factori F (celule F+) transferă plasmida la receptori (celule F“), care ca rezultat devin celule F+ (Figura 8.28a). În unele celule purtătoare de factori F, factorul se integrează în cromozom, transformând celula F+ într-o celulă Hfir (frecvență mare de recombinare) (Figura 8.28b). cromozomul celulei (cu factorul său F integrat) se replică și o catenă

parentală a cromozomului este transferată în celula primitoare (Figura 8.28c). Replicarea cromozomului Hfr începe în mijlocul factorului F integrat, iar o mică bucată din factorul F conduce genele cromozomiale în celula F. De obicei, cromozomul se rupe înainte de a fi transferat complet, ADN-ul donatorului se poate recombina cu ADN-ul receptorului (ADN-ul donatorului, care nu este integrat cu o celulă Hfr). poate dobândi versiuni noi ale genelor cromozomiale (la fel ca în transformare, rămâne însă o celulă F~ deoarece nu a primit un factor F complet în timpul conjugării).

Conjugarea este folosită pentru a mapa locația genelor pe un cromozom bacterian (vezi Figura 8.1b). Genele pentru sinteza treoninei (thr) și leucinei (Zeu) sunt primele, citite în sensul acelor de ceasornic de la 0. Locațiile lor au fost determinate prin experimente de conjugare. Să presupunem că conjugarea este permisă numai timp de 1 minut între o tulpină Hfr care este his+, proH, thr+ și leu+ și o tulpină F" care este his , pro , thr și leu-. Dacă F ' a dobândit capacitatea de a sintetiza treonina, atunci gena thr este localizată la începutul minutei în crom F0 și după cromosome. devine thrb și leu+, ordinea acestor două gene pe cromozom trebuie să fie thr, leu (wy Conjugarea animațiilor: (/er/iew, Factor F, Hfr '-onjugare, Cartografierea cromozomilor.

Transducția în bacterii

Un al treilea mecanism de transfer genetic între bacterii este transducția. În acest proces, ADN-ul bacterian este transferat dintr-o celulă receptoră dono ce oa în interiorul unui virus care infectează bacteriile, riofagul sau fagul. (Fagile vor fi discutate în continuare în capitolul 13.)

Ib .hkiers! și cum funcționează transducția, vom lua în considerare ciclul de viață, cu un tip de fag transductor al E. coli; acest fag realizează transducția generalizată (Figura 8.29).

În timpul reproducerii fagilor, ADN-ul fagilor și proteinele sunt sintetizate de către celula bacteriană gazdă. ADN-ul fagului ar trebui

fi ambalat în interiorul învelișului de proteine fagice. Cu toate acestea, ADN-ul bacterian, ADN-ul plasmidic sau chiar ADN-ul altui virus pot fi ambalați în interiorul unui înveliș de proteină fagică.

Toate genele conținute într-o bacterie infectată de un fag transductor generalizat sunt la fel de probabil să fie ambalate într-un înveliș de fag și transferate. Într-un alt tip de transducție, numită transducție specializată, sunt transferate doar anumite gene bacteriene (vezi pagina 384). Într-un tip de transducție specializată, fagii codifică anumite toxine produse de gazdele lor bacteriene, cum ar fi toxina difteric pentru Corynebacterium diphtheriae (kor'-i-ne-bak-ti-re-um dif-thi'-re-i), toxina eritrogenă pentru Streptococcus pyogenes și toxina E. Shigacoli pyogenes pentru.

Transducție de animație: Transducție generalizată

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Diferențierea transferului de gene orizontal și vertical. 8-14

Comparați conjugarea dintre următoarele perechi: F+ x Fl Hfrx F". 8-15

Plasmide și transpozoni

Plasmidele și transpozonii sunt elemente genetice care oferă mecanisme suplimentare pentru schimbarea genetică. Ele apar atât în organisme procariote, cât și în organisme eucariote, dar această discuție se concentrează pe rolul lor în schimbarea genetică la procariote.

Plasmide

Amintiți-vă din Capitolul 4 (pagina 94) că plasmidele sunt bucăți circulare de ADN care se auto-replica, care conțin gene, cu aproximativ 1-5% din dimensiunea cromozomului bacterian (Figura 8.30a). Se găsesc în principal în bacterii, dar și în unele microorganisme eucariote, precum Saccharomyces cerevisiae. Factorul F este o plasmidă conjugativă care poartă gene pentru pili sexuale și pentru transferul plasmidei într-o altă celulă. Deși plasmidele sunt de obicei dispensabile, în anumite condiții genele purtate de plasmide pot fi cruciale pentru supraviețuirea și creșterea celulei. De exemplu, plasmidele de disimilare codifică enzimele care declanșează catabolismul anumitor zaharuri și hidrocarburi neobișnuite. Unele specii de Pseudomonas pot folosi substanțe exotice precum toluenul, camohorul și hidrocarburile petroliere ca surse primare de carbon și energie, deoarece au enzime catabolice codificate de gene transportate pe plasmide. Astfel de capabilități specializate permit supraviețuirea acelor microorganisme în medii foarte diverse și provocatoare. Datorită capacității lor de a degrada și detoxifica o varietate de compuși neobișnuiți, mulți dintre ei sunt investigați pentru o posibilă utilizare în curățarea deșeurilor din mediu. (Vezi caseta din Capitolul 2, pagina 32.)

Alte plasmide codifică proteine care sporesc patogenitatea unei bacterii. Tulpina de E. coli care provoacă diareea sugarului și diareea călătorului poartă plasmide care codifică producția de toxine și atașarea bacteriilor la celulele intestinale. Fără aceste plasmide, E. coli este un rezident inofensiv al intestinului gros; cu ele, este patogen. Alte toxine codificate cu plasmide includ toxina exfoliativă a Staphylococcus aureus, neurotoxina Clostridium tetani și toxinele Bacillus anthracis. Alte plasmide conțin gene pentru sinteza bacteriocinelor, proteine toxice care ucid alte bacterii. Aceste plasmide au fost găsite în multe genuri bacteriene și sunt markeri utili pentru identificarea anumitor bacterii în laboratoarele clinice.

Factorii de rezistență (factorii R) sunt plasmide care au o importanță medicală semnificativă. Au fost descoperite pentru prima dată în Japonia la sfârșitul anilor 1950, după mai multe epidemii de dizenterie. În unele dintre aceste epidemii, agentul infecțios a fost rezistent la antibioticul obișnuit. În urma izolării, agentul patogen s-a dovedit, de asemenea, rezistent la o serie de antibiotice diferite. În plus, și alte bacterii normale de la pacienți (cum ar fi E. coll) s-au dovedit a fi rezistente. Cercetătorii au descoperit curând că aceste bacterii au dobândit

rezistență prin răspândirea genelor de la un organism la altul. Plasmidele care au mediat acest transfer sunt factorii R.

Factorii R poartă gene care conferă celulei gazdă rezistență la antibiotice, metale grele sau toxine celulare. Mulți factori R conțin două grupuri de gene. Un grup este numit factor de transfer de rezistență (RTF) și include gene pentru replicarea și conjugarea plasmidelor. Celălalt grup, determinantul r, are genele de rezistență; codifică producția de enzime care inactivează anumite medicamente sau substanțe toxice (Figura 8.30b). Diferiți factori R, atunci când sunt prezenți în aceeași celulă, se pot recombina pentru a produce factori R cu noi combinații de gene în determinanții lor r.

În unele cazuri, acumularea de gene de rezistență într-o singură plasmidă este destul de remarcabilă. De exemplu, Figura 8.30b prezintă o hartă genetică a plasmidei de rezistență R100. Pe această plasmidă sunt purtate gene de rezistență pentru sulfonamide, streptomicina, cloramfenicol și tetraciclină, precum și gene pentru rezistența la mercur. Această plasmidă particulară poate fi transferată între un număr de specii enterice, inclusiv Escherichia, Klebsiella și Salmonella.

Factorii R prezintă probleme foarte grave pentru tratarea bolilor infecțioase cu antibiotice. Utilizarea pe scară largă a antibioticelor în medicină și agricultură (vezi caseta din capitolul 20 la pagina 583) a dus la supraviețuirea (selectarea) preferențială a bacteriilor care au factori R, astfel că populațiile de bacterii rezistente cresc din ce în ce mai mari. La această problemă contribuie și transferul rezistenței între celulele bacteriene ale unei populații și chiar între bacterii de diferite genuri. Capacitatea de a se reproduce sexual cu membrii o. propria sa specie definește o specie eucariotă. Cu toate acestea, o specie de bacterie poate conjuga și transfera plasmide la alte specii. Este posibil ca Neisseria să fi obținut plasmida producătoare de penicilinază de la Streptococcus, iar Agrobacterium poate transfera plasmide în celulele plantei (vezi Figura 9.20, pagina 264). Plasmidele neconjugative pot fi transferate de la o celulă la alta prin inserarea lor într-o plasmidă conjugativă sau un cromozom sau prin transformare atunci când sunt eliberate dintr-o celulă moartă. Inserarea este posibilă printr-o secvență de inserare, care va fi discutată în scurt timp.

Plasmidele sunt un instrument important pentru inginerie genetică, discutat în Capitolul 9 (pagina 248-249).

Transpozonii

Transpozonii sunt segmente mici de ADN care se pot muta (fi „transpus") dintr-o regiune a unei molecule de ADN în alta. Aceste bucăți de ADN au o lungime de 700 până la 40.000 de perechi de baze.

În anii 1950, geneticianul american Barbara McClintock a descoperit transpozonii în porumb, dar aceștia apar în toate organismele și au fost studiati cel mai amănunțit în microorganisme. Se pot muta de la un loc la altul de pe același cromozom sau la alt cromozom sau plasmidă. După cum vă puteți imagina, mișcarea frecventă a transpozonilor ar putea face ravagii în interiorul unei celule. De exemplu, pe măsură ce transpozonii se

deplasează pe cromozomi, ei se pot introduce în gene, inactivându-le. Din fericire, transpunerea are loc relativ rar, „frecvența transpunerii este comparabilă cu rata mutațiilor spontane care apare la bacterii – adică de la 10-5 la 10” pe generație.

Toți transpozonii conțin informații pentru propria lor transpunere. După cum se arată în Figura 8.31a, cei mai simpli transpozoni, numiți și secvențe de inserție (IS), conțin doar o genă care codifică o enzimă (transpozaza, care catalizează tăierea și resigilarea ADN-ului care are loc în transpunere) și locuri de recunoaștere. Locurile de recunoaștere sunt secvențe scurte de ADN repetate inversate pe care enzima le recunoaște ca situsuri de recombinare între transpozon și cromozom.

Transpozonii complecși poartă și alte gene care nu au legătură cu procesul de transpunere. De exemplu, transpozonii bacterieni pot conține gene pentru enterotoxină sau pentru rezistența la antibiotice (Figura 8.31b). Plasmidele precum factorii R sunt adesea formate dintr-o colecție de transpozoni (Figura 8.31c).

Ocazional, în timpul asamblarii fagilor, bucăți de ADN bacterian sunt împachetate într-o capsidă de fag. Apoi, celula donatoare lizează și eliberează particule de fagi care conțin ADN bacterian.

Un fag care poartă ADN bacterian infectează o nouă celulă gazdă, celula primitoare.

Figura 8.29 Transducția de către un bacteriofag. Aici este prezentată transducția generalizată, în care orice ADN bacterian poate fi transferat de la o celulă la alta.

Cum ar putea E. coli să dobândească gena toxinei Shiga?

Transpozonii cu gene de rezistență la antibiotice sunt de interes practic, dar nu există nicio limitare cu privire la tipurile de gene pe care le pot avea transpozonii. Astfel, transpozonii oferă un mecanism natural pentru mișcarea genelor de la un cromozom la altul. În plus, deoarece pot fi transportate între celule pe plasmide sau viruși, se pot răspândi și de la un organism – sau chiar specie – la altul. De exemplu, rezistența la vancomicină a fost transferată de la Enterococcus faecalis la Staphylococcus aureus

IS1

< A k

ACTTACTGAT ATCAGTAAGT

f — ■ Gena transpozazei— ■

TGAATGACTA TAGTCATTCA

k J \ v /

Repetare inversată Repetare inversată

O secvență de inserție (IS), cel mai simplu transposon, conține o genă pentru transpozază, enzima care catalizează transpunerea. Gena transpozazei este limitată la fiecare capăt de secvențe repetate inversate care funcționează ca situsuri de recunoaștere pentru transpozon. IS1 este un exemplu de secvență de inserție, prezentată aici cu secvențe IR simplificate.

Tn5

IS1 IS1

Transpozonii complecși pot avea alt material genetic în plus față de genele transpozazei. Exemplul prezentat aici, Tn5, poartă gena pentru rezistența la kanamicină și are copii complete ale secvenței de inserție IS1 la fiecare capăt.

Figura 8.31 Transpozoni și inserție.

LA ATCAGTAAGT

Gena transpozazei.

TGAATG aTtV tT

® Transposase taie ADN-ul, lasand capete lipicioase.

Capetele lipicioase ale transpozonului și recoacerea ADN țintă.

De ce transpozonii sunt uneori denumiți „gene săritoare”?

Inserarea transpozonului Tn5 în plasmida R100

printr-un transpozon numit Tnl546. Transpozonii sunt astfel un mediator potențial puternic al evoluției în organisme. Animații Transpozoni: Prezentare generală, Secvențe de inserare, Transpozoni complexi

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce tipuri de gene poartă plasmidele? 8-16

Genele și evoluția

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

8- Discutați modul în care mutația și recombinarea genetică furnizează material pentru a acționa selecția naturală.

Am văzut acum cum activitatea genelor poate fi controlată de mecanismele de reglare interne ale celulei și cum genele în sine pot fi modificate sau rearanjate prin mutație, transpunere și recombinare. Toate aceste procese asigură diversitate descendenților celulelor. Diversitatea furnizează materia primă pentru evoluție, iar selecția naturală oferă forța sa motrice. Selecția naturală va acționa asupra diverselor populații pentru a asigura supraviețuirea: a celor potrivite pentru acel mediu particular. Diferitele tipuri de microorganisme care există astăzi sunt rezultatul unei lungi istorii de evoluție. Microorganismele s-au schimbat continuu prin modificări ale proprietăților lor genetice și prin dobândirea de adaptări la multe habitate diferite. Vezi căsuța despre rezistența la antibiotice din capitolul 26, pagina 757, pentru un exemplu de selecție naturală.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Selecția naturală înseamnă că mediul favorizează supraviețuirea unor genotipuri. De unde provine diversitatea genotipurilor? 8-17

^BstudyOutline

Stăpânirea MICROBIOLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare a microbilor și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Structura și funcția geneticii

Material (pag. 208-218)

Genetica este studiul a ceea ce sunt genele, modul în care acestea transportă informații, cum sunt exprimate informațiile lor și cum sunt replicate și transmise generațiilor ulterioare sau altor organisme.

ADN-ul în celule există ca un helix dublu catenar; cele două catene sunt ținute împreună prin legături de hidrogen între perechi de baze azotate specifice: AT și CG.

O genă este un segment de ADN, o secvență de nucleotide, care codifică un produs funcțional, de obicei o proteină.

ADN-ul dintr-o celulă este duplicat înainte ca celula să se divizeze, astfel încât fiecare celulă descendentă primește aceeași informație genetică.

Genotip și fenotip (p. 208-209)

Genotipul este compoziția genetică a unui organism, întregul său complement de ADN.

Fenotipul este expresia genelor: proteinele celulei și proprietățile pe care acestea le conferă organismului.

ADN și cromozomi (pag. 209)

ADN-ul dintr-un cromozom există ca un dublu helix lung asociat cu diferite proteine care reglează activitatea genetică.

Genomica este caracterizarea moleculară a genomului.

Fluxul informațiilor genetice (p. 209-210)

Informațiile conținute în ADN sunt transcrise în ARN și traduse în proteine.

Replicarea ADN (p. 210-215)

În timpul replicării ADN-ului, cele două catene ale dublei helix se separă la bifurcația de replicare și fiecare catenă este folosită ca matriță de către ADN polimeraze pentru a sintetiza două noi catene de ADN conform regulilor de împerechere a bazelor azotate.

Rezultatul replicării ADN-ului sunt două noi catene de ADN, fiecare având o secvență de baze complementară uneia dintre catenele originale.

Deoarece fiecare moleculă de ADN dublu catenar conține o catenă originală și una nouă, procesul de replicare se numește semiconservator.

ADN-ul este sintetizat într-o direcție desemnată 5’ —* 3’. La bifurcația de replicare, firul conducător este sintetizat continuu, iar firul întârziat discontinuu.

ADN polimeraza corectează noi molecule de ADN și elimină bazele nepotrivite înainte de a continua sinteza ADN-ului.

Fiecare bacterie fiică primește un cromozom care este practic identic cu cel al părintelui.

Sinteza ARN și a proteinelor (pag. 215-218)

În timpul transcripției, enzima ARN polimeraza sintetizează o catenă de ARN dintr-o catenă de ADN dublu catenar, care servește ca șablon.

ARN-ul este sintetizat din nucleotide care conțin bazele A, C, G și U, care se împerechează cu bazele catenei de ADN care se transcrie.

ARN polimeraza leagă promotorul; transcrierea începe la AUG; regiunea ADN-ului care este punctul final al transcripției este terminatorul; ARN-ul este sintetizat în direcția 5’ —> 3’.

Translația este procesul în care informațiile din secvența de baze de nucleotide a ARNm sunt utilizate pentru a dicta secvența de aminoacizi a unei proteine.

ARNm se asociază cu ribozomi, care constau din ARNr și proteine.

Segmentele cu trei baze ale ARNm care specifică aminoacizii se numesc codoni.

Codul genetic se referă la relația dintre secvența de baze nucleotidice a ADN-ului, codonii corespunzători ai ARNm și aminoacizii pentru care codifică codonii.

Codul genetic este degenerat; adică majoritatea aminoacizilor sunt codificați de mai mult de un codon.

Aminoacizii specifici sunt atașați la moleculele de ARNt. O altă porțiune a ARNt are un triplet de bază numit anticodon.

Împerecherea de baze de codon și anticodon la nivelul ribozomului are ca rezultat aducerea de aminoacizi specifici la locul sintezei proteinelor.

Ribozomul se deplasează de-a lungul catenei de ARNm pe măsură ce aminoacizii sunt uniți pentru a forma o polipeptidă în creștere; ARNm este citit în direcția 5’ —^3’.

Translația se termină atunci când ribozomul atinge un codon stop pe ARNm.

Reglarea genei bacteriene

Exprimare (p. 218-223)

Reglarea sintezei proteinelor la nivel de genă este eficientă din punct de vedere energetic, deoarece proteinele sunt sintetizate doar atunci când sunt necesare.

Enzimele constitutive produc produse la o rată fixă. Exemple sunt genele pentru enzimele din glicoliză.

Pentru aceste mecanisme de reglare a genelor, controlul vizează sinteza ARNm.

Control pre-transcripțional (pag. 219-222)

Când celulele sunt expuse la un anumit produs final, sinteza enzimelor legate de acel produs este reprimată.

În prezența anumitor substanțe chimice (inductori), celulele sintetizează mai multe enzime. Acest proces se numește inducție.

La bacterii, un grup de gene structurale reglate coordonat cu funcții metabolice înrudite, plus site-urile promotoare și operatore care controlează transcripția lor, sunt numite operon.

În modelul de operon pentru un sistem inductibil, o genă reglatoare codifică proteina represoare.

Când inductorul este absent, represorul se leagă de operator și nu este sintetizat ARNm.

Când inductorul este prezent, acesta se leagă de represor astfel încât să nu se lege de operator; astfel, se produce ARNm și este indusă sinteza enzimatică.

În sistemele represibile, represorul necesită un corepresor pentru a se lega de locul operatorului; astfel, corepresorul controlează sinteza enzimei.

Transcrierea genelor structurale pentru enzimele catabolice (cum ar fi [3-galactozidaza) este indusă de absența glucozei. AMP ciclic și CRP trebuie să se lege la un promotor în prezența unui carbohidrat alternativ.

Nucleotidele metilate nu sunt transcrise în control epigenetic.

Control post-transcripțional (pag. 222-223)

MicroARN-urile se combină cu ARNm; ARN-ul dublu catenar rezultat este distrus.

Mutație: schimbare în genetică

Material (pag. 223-231)

O mutație este o modificare a secvenței de baze azotate a ADN-ului; acea modificare provoacă o modificare a codec-ului produsului de către gena mutantă.

Multe mutații sunt neutre, unele sunt dezavantajoase, iar altele sunt benefice.

Tipuri de mutații (pp. 224-226)

O substituție de baze are loc atunci când o pereche de baze din ADN este înlocuită cu o pereche de baze diferită.

Alterările ADN-ului pot duce la mutații fără sens (care provoacă substituții de aminoacizi) sau mutații nonsens (care creează codoni stop).

Într-o mutație frameshift, una sau | câteva perechi de baze sunt șterse sau adăugate la ADN.

Mutagenii sunt agenți din mediu care provoacă modificări permanente ale ADN-ului.

Mutațiile spontane apar fără prezența vreunui mutagen.

Mutageni (p. 226-228)

Mutagenii chimici includ mutageni de perechi de baze, analogi nucleozidici și mutageni de schimbare a cadrelor.

Radiațiile ionizante determină formarea de ioni și radicali liberi care reacționează cu ADN-ul; rezultă substituții de baze sau ruperea coloanei vertebrale a zahărfosfatului.

Radiațiile ultraviolete (UV) sunt neionizante; determină legături între timinele adiacente.

Daunele aduse ADN-ului cauzate de radiațiile UV pot fi reparate de enzime care elimină și înlocuiesc porțiunea deteriorată a ADN-ului.

Enzimele de reparare a luminii repară dimerii de timină în prezența luminii vizibile.

Frecvența mutațiilor (pag. 228)

Rata mutației este probabilitatea ca o genă să sufere mutații atunci când o celulă se divide; rata este exprimată ca 10 la o putere negativă.

Mutațiile apar de obicei aleatoriu de-a lungul unui cromozom.

O rată scăzută de mutații spontane este benefică în furnizarea diversității genetice necesare evoluției.

Identificarea mutanților (pp. 228-230)

Mutanții pot fi detectați prin selectarea sau testarea unui fenotip modificat.

Selecția pozitivă implică selecția celulelor mutante și respingerea celulelor nemutate.

Placarea cu replica este utilizată pentru selecția negativă - pentru a detecta, de exemplu, auxotrofii care au cerințe nutriționale care nu sunt deținute de celula părinte (nemutată).

Identificarea agenților cancerigeni chimici (pag. 230-231)

Testul Ames este un test relativ ieftin și rapid pentru identificarea posibililor agenți cancerigeni chimici.

Testul presupune că o celulă mutantă poate reveni la o celulă normală în prezența unui mutagen și că mulți mutageni sunt cancerigeni.   .

Transfer genetic și

Recombinare (PP. 231-239)

Recombinarea genetică, rearanjarea genelor din grupuri separate de gene, implică de obicei ADN de la diferite organisme; contribuie la diversitatea genetică.

La încrucișare, genele de la doi cromozomi sunt recombinate într-un singur cromozom care conține unele gene din fiecare cromozom original.

3* Transferul vertical are loc în timpul reproducerii când genele sunt transmise de la un organism la descendenții săi.

Transferul orizontal al genelor în bacterii implică transferul unei porțiuni din ADN-ul celulei de la donator la primitor.

Când o parte din ADN-ul donatorului a fost integrat în ADN-ul receptorului, celula rezultată este numită recombinantă.

Transformarea în bacterii (pag. 232)

În timpul acestui proces, genele sunt transferate de la o bacterie la alta ca ADN „gol” în soluție.

Acest proces are loc în mod natural printre câteva genuri de bacterii.

Conjugarea în bacterii (PP. 232-234)

Acest proces necesită contact între celulele vii.

Un tip de celulă donatoare genetică este un F+; celulele primitoare sunt F“.

Celulele F conțin plasmide numite factori F; acestea sunt transferate celulelor F” în timpul conjugării.

Când plasmida devine încorporată în cromozom, celula este numită celulă Hfr (frecvență înaltă de recombinare).

În timpul conjugării, o celulă Hfr poate transfera ADN cromozomial unei celule F. De obicei, cromozomul Hfr se rupe înainte de a fi transferat complet.

Transducția în bacterii (PP. 234-235)

În acest proces, ADN-ul este trecut de la o bacterie la alta într-un bacteriofag și apoi este încorporat în ADN-ul primitorului.

În transducția generalizată, orice genă bacteriană poate fi transferată.

Plasmide și transpozoni (PP. 235-239)

Plasmidele sunt molecule circulare auto-replicate ale ADN-ului purtătoare de gene care nu sunt de obicei esențiale pentru supraviețuirea celulei.

Există mai multe tipuri de plasmide, inclusiv plasmide conjugative, plasmide de disimilare, plasmide care poartă gene pentru toxine sau bacteriocine și factori de rezistență.

Transpozonii sunt segmente mici de ADN care se pot muta dintr-o regiune în alta a aceluiași cromozom sau la un cromozom diferit sau o plasmidă.

. . Transpozonii se găsesc în cromozomi, în plasmide și în materialul genetic al virusurilor. Acestea variază de la simple (secvențe de inserare) la complexe.

18. Transpozonii complecși pot transporta orice tip de genă, inclusiv gene de rezistență la antibiotice, și sunt astfel un mecanism natural de mutare a genelor de la un cromozom la altul.

Genele și evoluția (pag. 239)

Diversitatea este condiția prealabilă pentru evoluție.

Mutația și recombinarea genetică asigură o diversitate de organisme, iar procesul de selecție naturală permite creșterea celor mai bine adaptate unui anumit mediu.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Descrieți pe scurt componentele ADN-ului și explicați relația funcțională a acestuia cu ARN și proteine.

Identificați și marcați fiecare dintre următoarele pe porțiunea de ADN în curs de replicare: furcă de replicare, ADN

Potriviți următoarele exemple de mutageni.

Coloana A

o. Un mutagen care este încorporat în ADN mutagen 1. Frameshift în locul unei baze normale

b. Un mutagen care provoacă

formarea de ioni foarte reactivi

c. Un mutagen care modifică adenina deci

că se împerecheează cu citozina

d. Un mutagen care provoacă inserții

e. Un mutagen care provoacă

formarea dimerilor de pirimidină

Următorul este un cod pentru o catenă de ADN.

DNA 3'ATAT TTT

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10111213 14 1516171819 ARNm CGU UGA

ARNt UGG

Aminoacid Met

Al AT = secvență promotor

Folosind codul genetic furnizat în Figura 8.8, completați spațiile libere pentru a completa segmentul de ADN prezentat.

Completați spațiile libere pentru a completa secvența de aminoacizi codificată de această catenă de ADN.

Scrieți codul pentru catena complementară de ADN completată în partea (a).

Care ar fi efectul dacă C ar fi înlocuit cu T la baza 10?

Care ar fi efectul dacă A ar fi înlocuit cu G la baza 11?

Care ar fi efectul dacă G ar fi înlocuit cu T în baza 14?

Care ar fi efectul dacă C ar fi introdus între bazele 9 și 10?

Cum ar afecta radiațiile UV această catenă de ADN?

Identificați o secvență fără sens în această catenă de ADN.

Când fierul nu este disponibil, E. coli poate opri sinteza tuturor proteinelor, cum ar fi superoxid dismutaza și succinat dehidrogenaza, care necesită fier. Descrieți un mecanism pentru acest regulament.

Identificați când (înainte de transcriere, după transcriere, dar înainte de traducere, după traducere) funcționează fiecare dintre următoarele mecanisme de reglare.

ATP se combină cu o enzimă, modificându-i forma.

Se sintetizează un ARN scurt care este complementar ARNm.

Are loc metilarea ADN-ului.

Un inductor se combină cu un represor.

Care secvență este cea mai bună țintă pentru daune cauzate de radiațiile UV: AGGCAA, CTTT'GA sau GUAAAU? De ce nu sunt ucise toate bacteriile atunci când sunt expuse la lumina soarelui?

Vi se oferă culturi cu următoarele caracteristici: Cultura 1: F+, genotip A+ B+ C?

Cultura 2: F~, genotip A~ B~ C~

Indicați genotipurile posibile ale unei celule recombinate rezultate din conjugarea culturilor 1 și 2.

Indicați genotipurile posibile ale unei celule recombinante rezultate din conjugarea celor două culturi după ce F+ a devenit o celulă Hfr.

De ce sunt importante mutația și recombinarea în procesul de selecție naturală și în evoluția organismelor?

În mod normal, un comensal în intestinul uman, această bacterie a devenit patogenă după dobândirea unei gene a toxinei de la o bacterie Shigella.

Alegere Multiplă

Potriviți următorii termeni cu definițiile de la întrebările terenul 2.

conjugare

transcriere

transducție

transformare

traducere

1. Transferul de ADN de la un donator la o celulă primitoare de către un bacteriofag.

Transferul ADN-ului de la un donator la un receptor ca ADN gol în soluție.

Inhibarea feedback-ului diferă de represiune deoarece inhibarea feedback-ului

este mai putin precisa.

acţionează mai lent.

oprește acțiunea enzimelor preexistente.

oprește sinteza de noi enzime.

toate cele de mai sus

Bacteriile pot dobândi rezistență la antibiotice prin toate următoarele, cu excepţia

mutaţie.

inserarea transpozonilor.

conjugare.

snRNP-uri.

transformare.

Să presupunem că inoculezi trei baloane cu bulion de săruri minime cu E. coli. Balonul A conține glucoză. Balonul B conține glucoză și lactoză. Balonul C conține lactoză. După câteva ore de incubație, testezi baloanele pentru prezența Ș-galactozidazei. Ce balon(e) preziceți că va avea această enzimă?

A d. A și B

B e. B și C

C

Plasmidele diferă de transpozoni prin acele plasmide

devin introduse în cromozomi.

sunt autoreplicate în afara cromozomului.

trece de la cromozom la cromozom.

poartă gene pentru rezistența la antibiotice.

nici una dintre cele de mai sus

Utilizaţi următoarele opţiuni pentru a răspunde la întrebările 7 și 8.

represiune catabolita d. represiune

ADN polimeraza e. traducere

inducţie

Mecanism prin care prezenţa glucozei inhibă operonul lac.

Mecanismul prin care lactoza controlează operonul lac.

Două celule descendenți sunt cel mai probabil să moștenească care dintre următoarele celule de la celula părinte?

o modificare a unei nucleotide din ARNm

o modificare a unei nucleotide din ARNt

o modificare a unei nucleotide din ARNr

o modificare a unei nucleotide din ADN

o modificare a unei proteine

Care dintre următoarele nu este o metodă de transfer orizontal de gene?

fisiune binară

conjugare

integrarea unui transpozon .

transducție

transformare

Gândire critică

Analogii nucleozidici și radiațiile ionizante sunt utilizați în tratarea cancerului. Acești mutageni pot provoca cancer, așa că de ce crezi că sunt folosiți pentru a trata boala?

Replicarea cromozomului E. coli durează între 40 și 45 de minute, dar organismul are un timp de generare de 26 de minute. Cum are celula timp să facă cromozomi completi pentru fiecare celulă descendentă?

Pseudomonas are o plasmidă care conține operonul mer, care include gena reductaza mercurică. Această enzimă catalizează reducerea ionului de mercur Hg2+ la forma neîncărcată de mercur, Hgu. Hg-+ este destul de toxic pentru celule; Hg° nu este.

Care crezi că este inductorul acestui operon?

Proteina codificată de una dintre genele mer leagă Hg2+ în periplasmă și o aduce în celulă. De ce ar aduce o celulă o toxină?

Care este valoarea operonului mer pentru Pseudomonas?

Aplicații clinice

1. Ciprofloxacina, eritromicina și aciclovirul sunt utilizate pentru a trata infecțiile microbiene. Ciprofloxacina inhibă ADN giraza. Eritromicina se leagă în fața situsului A pe subunitatea 50S a unui ribozom. Aciclovirul este un analog al guaninei.

Ce pași în sinteza proteinelor sunt inhibați de fiecare medicament?

Ce medicament este mai eficient împotriva bacteriilor? De ce?

Ce medicamente vor avea efecte asupra celulelor gazdei? De ce?

Utilizați indexul pentru a identifica boala pentru care aciclovirul este utilizat în principal. De ce este mai eficient decât eritromicina pentru tratarea acestei boli?

2- HIV, virusul care provoacă SIDA, a fost izolat de la trei indivizi și s-au determinat secvențele de aminoacizi pentru învelișul viral. Dintre secvențele de aminoacizi prezentate mai jos, care două dintre viruși sunt cele mai strâns legate? Cum pot fi utilizate aceste secvențe de aminoacizi pentru a identifica sursa unui virus?

Secvența de aminoacizi virali a pacientului

A	Asn	Gin	Thr	Ala	Ala	Ser	Lys	Asn	lie	Asp	Ala
	Leu										
B.	Asn	Leu	His	Ser	Asp	Lys	He	Asn	He	lie	Leu
	Leu										
C	Asn	Gin	Thr	Ala	Asp	Ser	lie	Vai	lie	Asp	Ala
	Leu										

Herpesvirusul uman-8 (HHV-8) este comun în anumite părți ale Africii, Orientului Mijlociu și Mediteranei, dar este rar în altă parte, cu excepția pacienților cu SIDA. Analizele genetice indică faptul că tulpina africană nu se schimbă, în timp ce tulpina occidentală acumulează schimbări. Folosind porțiunile genomului HHV-8 (prezentate mai jos) care codifică una dintre proteinele virale, cât de similare sunt aceste două viruși? Ce mecanism poate explica schimbările? Ce boală provoacă HHV-8?

Western	3'-ATGGAGTTCTTCTGGACAAGA
African	3'-ATAAACTTI I ICI IGACAACG

Biotehnologie și

Tehnologia ADN-ului

F

sau de mii de ani, oamenii consumă alimente care sunt produse prin acțiunea microorganismelor. Pâinea, ciocolata și sosul de soia sunt câteva dintre cele mai cunoscute exemple. Însă doar cu puțin peste 100 de ani în urmă oamenii de știință au arătat că microorganismele sunt responsabile pentru aceste produse. Aceste cunoștințe au deschis calea utilizării microorganismelor pentru a produce alte produse importante. Încă din Primul Război Mondial, microbii au fost folosiți pentru a produce o varietate de substanțe chimice, cum ar fi etanol, acetonă și acid citric. Începând cu cel de-al Doilea Război Mondial, microorganismele au fost cultivate pe scară largă pentru a produce antibiotice. Mai recent, microbii și enzimele lor înlocuiesc o varietate de procese chimice implicate în fabricarea unor produse precum hârtie, textile și fructoză. Folosirea microbilor sau a enzimelor acestora în locul sintezei chimice oferă mai multe avantaje: microbii pot folosi materii prime scumpe, abundente, cum ar fi amidonul; microbii lucrează la temperaturi și presiune normale, evitând astfel necesitatea unor sisteme presurizate scumpe și periculoase; iar microbii nu produc deșeuri toxice, greu de tratat. În ultimii 30 de ani, tehnologia ADN-ului a fost adăugată instrumentelor utilizate pentru fabricarea produselor.

În acest capitol veți învăța instrumentele și tehnicile care sunt utilizate pentru cercetarea și dezvoltarea unui produs. Veți învăța, de asemenea, cum este utilizată tehnologia ADN-ului pentru a urmări focarele de boli infecțioase și pentru a furniza dovezi pentru instanțele de judecată în microbiologie criminalistică. Cazul clinic ilustrează utilizarea tehnologiei ADN pentru a urmări HIV (vezi fotografia).

Introducere în biotehnologie

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

9-1 Comparați biotehnologia contrastului, modificarea genetică și tehnologia ADN recombinant.

9-2 Identificați rolurile unei clone și ale unui vector în realizarea ADN-ului recombinant.

Biotehnologia este utilizarea de microorganisme, celule sau componente celulare pentru a face un produs. Microbii au fost folosiți în producția comercială de alimente, vaccinuri, antibiotice și vitamine de ani de zile. Bacteriile sunt, de asemenea, folosite în minerit pentru a extrage elemente valoroase din minereu (vezi Figura 28.14, pagina 813). În plus, celulele animale au fost folosite pentru a produce vaccinuri virale încă din anii 1950. Până în anii 1980, produsele obținute de celule vii erau toate fabricate de celule naturale; rolul oamenilor de știință este de a găsi celula adecvată și de a dezvolta o metodă pentru cultivarea la scară largă a celulelor.

Acum, microorganismele, precum și plantele întregi sunt folosite ca fabrici pentru a produce substanțe chimice pe care organismele nu le produc în mod natural. Acesta din urmă este posibil prin inserarea genelor în celule prin tehnologia ADN-ului recombinant (rADN), care este uneori numită inginerie genetică. Dezvoltarea tehnologiei ADNr extinde aplicațiile practice ale biotehnologiei aproape dincolo de imaginație.

Tehnologia ADN recombinant

Amintiți-vă din capitolul 8 că recombinarea ADN-ului are loc în mod natural în microbi. În anii 1970 și 1980, oamenii de știință au dezvoltat tehnici artificiale pentru a produce ADN recombinant.

O genă de la un animal vertebrat, inclusiv un om, poate fi inserată în ADN-ul unei bacterii sau poate fi utilizată o genă dintr-un virus într-o drojdie. În multe cazuri, destinatarul poate fi apoi făcut să exprime gena, care poate codifica un produs util comercial. Astfel, bacteriile cu gene pentru insulină umană sunt acum folosite pentru a produce insulină pentru tratarea diabetului zaharat, iar un vaccin pentru hepatita B este fabricat de drojdiile care poartă o genă pentru o parte a virusului hepatitei (drojdia produce o proteină de înveliș viral). Oamenii de știință speră că o astfel de abordare se poate dovedi utilă în producerea de vaccinuri împotriva altor agenți infecțioși, eliminând astfel nevoia de a folosi organisme întregi, ca în vaccinurile convenționale.

Tehnicile ADNr pot fi, de asemenea, folosite pentru a face mii de copii ale aceleiași molecule de ADN - pentru a amplifica ADN-ul, generând astfel suficient ADN pentru diferite tipuri de experimente și analize. „Aceasta tehnică are aplicații practice pentru identificarea microbilor, cum ar fi virușii, care nu pot fi cultivați.

O prezentare generală a recombinantului

Proceduri ADN

Figu. e 9 prezintă o privire de ansamblu asupra unora dintre procedurile utilizate în mod obișnuit pentru producerea ADNr-ului, împreună cu unele aplicații promițătoare. Gena de interes este inserată în ADN-ul vector in vitro. În acest exemplu, vectorul este o plasmidă. Molecula de ADN aleasă ca vector trebuie să fie de tip auto-replicabil, cum ar fi o plasmidă sau un genom viral. Acest ADN vector recombinant este preluat de o celulă, cum ar fi o bacterie, unde se poate multiplica. Celula care conține vectorul recombinant este apoi crescută în cultură pentru a forma un compus din multe celule identice genetic, fiecare dintre acestea purtând copii ale vectorului. Prin urmare, această clonă celulară conține multe copii ale genei de interes. Acesta este motivul pentru care vectorii ADN sunt adesea numiți vectori de clonare a genelor, sau pur și simplu vectori de clonare. (Pe lângă faptul că se referă la o cultură de celule identice, cuvântul clonă este, de asemenea, folosit în mod obișnuit ca verb, pentru a descrie întregul proces, ca în „a clona o genă”).

Etapa finală variază în funcție de faptul că gena în sine sau produsul genei prezintă interes. Din clona celulară, cercetătorul poate izola („recolta”) cantități mari de genă de interes, care

pot fi apoi utilizate într-o varietate de scopuri. Gena poate fi chiar inserată într-un alt vector pentru introducere într-un alt tip de celulă (cum ar fi o celulă vegetală sau animală). Alternativ, dacă gena de interes este exprimată (transcrisă și tradusă) în clona celulară, produsul său proteic poate fi recoltat și utilizat pentru o varietate de scopuri.

„Avantajele utilizării ADN-ului recombinant pentru obținerea unor astfel de proteine sunt ilustrate de unul dintre succesele sale timpurii, hormonul uman de creștere (hGH). Unii indivizi nu produc cantități adecvate de hGH, astfel încât creșterea lor este oprită. În trecut, trebuia obținut hGH necesar pentru a corecta această deficiență

Caz clinic: Niciun control obișnuit Dr. B. își închide cabinetul stomatologic după 20 de ani. Acum patru ani. a mers la medicul de familie din cauza epuizării debilitante. Credea că are un virus gripal pe care nu-l putea scutura și avea și transpirații nocturne. Medicul lui i-a ordonat o multitudine de analize de sânge, dar numai unul a ieșit pozitiv. Dr. B. avea HIV. Deși a început imediat un regim de tratament HIV, un an mai târziu a fost diagnosticat cu SIDA. Acum, doi ani mai târziu, dr. B. este foarte bolnav și nu mai poate lucra. .

Dr. B. le anunță angajaților săi situația și le sugerează ca toți să fie testați pentru HIV. Toţi angajaţii Dr. B., inclusiv igieniştii, au rezultat negativ. Dr. B. scrie, de asemenea, o scrisoare deschisă pacienților săi, informându-i despre decizia sa de a-și închide cabinetul și de ce face acest lucru. Această scrisoare solicită a 400 de foști pacienți să fie testați pentru HIV, dintre care șapte sunt pozitivi pentru anticorpi împotriva HIV.

Ce tip de test poate determina dacă acești pacienți au contractat HIV de la Dr. B.? Citiți mai departe pentru a afla.

245

GUR

.1

O procedură de modificare genetică tipică

bacterie

Plasmidă

ADN care conține gena de interes

Cromozom bacterian

Vectorul, cum ar fi o plasmidă, este izolat.

ADN-ul care conține gena de interes de la o specie diferită este scindat de o enzimă în fragmente.

recomtesnanfi IM (

transformat

bacterie

/ i Gena dorită este selectată și inserată în plasmidă.

'.- I Plasmida este preluată de o celulă,
cum ar fi o bacterie.

(g) Celulele cu gena de interes sunt donate
având în vedere oricare dintre cele două obiective.

Proteina care codifică gena pentru rezistența dăunătorilor este inserată în celulele plantei.

CONCEPTELE CHEIE

Genele din celulele unui organism pot fi inserate și exprimate în celula altui organism.

Celulele modificate genetic pot fi folosite pentru a crea o mare varietate de produse și aplicații utile.

rom glandele pituitare umane la autopsie. (Homonul de creștere uman de la alte animale nu este eficient la om.) „Practica lui nu a fost doar costisitoare, ci și periculoasă, deoarece în mai multe rânduri bolile neurologice erau transmise cu acest hormon. Hormonul uman de creștere produs de E. coli modificată genetic este un produs pur și rentabil. Tehnicile de ADN recombinant au ca rezultat, de asemenea, o producție mai rapidă a hormonului decât ar permite metodele tradiționale.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

a'1 Diferențierea biotehnologiei și tehnologia ADN recombinant. 9-1 Într-o propoziție, descrieți cum sunt folosite un vector și o clonă. 9-2

Instrumente de biotehnologie

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

9-3 Comparați selecția și mutația.

9-4 Definiți enzimele de restricție și subliniați modul în care sunt utilizate pentru a produce ADN recombinant.

9-5 Enumerați cele patru proprietăți ale vectorilor.

9-6 Descrieți utilizarea vectorilor plasmidi și virali.

9-7 Subliniați pașii din PCR și oferiți un exemplu de utilizare a acestuia.

Oamenii de știință și tehnicienii de cercetare izolează bacteriile și ciupercile din mediile naturale, cum ar fi solul și apa, pentru a găsi sau selecta organismele care produc produsul dorit. „Organismul selectat poate fi mutat pentru a face mai mult produs sau pentru a face un produs mai bun.

Selectron

În natură, organismele cu caracteristici care sporesc supraviețuirea au mai multe șanse de a supraviețui și de a se reproduce decât variantele cărora le lipsesc trăsăturile dezirabile. Aceasta se numește selecție naturală. Oamenii folosesc selecția artificială pentru a selecta

rase de animale sau tulpini de plante dorite de cultivat. Pe măsură ce microbiologii au învățat cum să izoleze și să crească microorganisme în cultură pură, au putut să le selecteze pe cele care ar putea îndeplini obiectivul dorit, cum ar fi fabricarea mai eficientă a berii, de exemplu, sau producerea unui nou antibiotic. Peste 2000 de tulpini de bacterii producătoare de antibiotice au fost descoperite prin testarea bacteriilor din sol și selectarea tulpinilor care produc un antibiotic. Caseta din Capitolul 28, pagina 808, descrie selecția unei bacterii care transformă un produs rezidual într-un produs valoros.

Mutație

După cum am văzut în capitolul 8, mutațiile sunt responsabile pentru o mare parte din diversitatea vieții. O bacterie cu o mutație care conferă rezistență la un antibiotic va supraviețui și se va reproduce în prezența acelui antibiotic. Biologii care lucrează cu microbi producătoare de antibiotice au descoperit că ar putea crea noi tulpini prin expunerea microbilor la agenți mutageni. După ce mutații aleatorii au fost create în Penicillium care produce penicilină prin expunerea culturilor fungice la radiații, varianta cu cel mai mare randament dintre supraviețuitori a fost selectată pentru o altă expunere la un mutagen. Folosind mutații, biologii au crescut de peste 1000 de ori cantitatea de penicilină produsă de ciupercă.

Screeningul fiecărui mutant pentru producția de penicilină este un proces obositor. Mutageneza direcționată pe site poate fi utilizată pentru a face o modificare specifică a unei gene. Să presupunem că determinați că schimbarea unui aminoacid va face ca o enzimă de rufe să funcționeze mai bine în apă rece. Folosind codul genetic (vezi Figura 8.8, pagina 215), puteți, folosind tehnicile descrise în continuare, să produceți secvența de ADN care codifică acel aminoacid și să o introduceți în gena pentru acea enzimă.

Știința geneticii moleculare a avansat într-o asemenea măsură încât multe proceduri de clonare de rutină sunt efectuate folosind materiale preambalate și proceduri care seamănă foarte mult cu rețetele cărților de bucate. Oamenii de știință au o pungă de metode din care să aleagă, în funcție de aplicarea finală a experimentelor lor. În continuare vom descrie câteva dintre cele mai importante instrumente și tehnici, iar mai târziu vom lua în considerare câteva aplicații.

Enzime de restricție

Tehnologia ADN-ului recombinant își are rădăcinile tehnice în descoperirea enzimelor de restricție, o clasă specială de enzime de tăiere a ADN-ului care există în multe bacterii. Izolate pentru prima dată în 1970, enzimele de restricție din natură au fost de fapt observate mai devreme, când s-a descoperit că anumiți bacteriofagi au o gamă restrânsă de gazdă. Dacă acești fagi au fost folosiți pentru a infecta alte bacterii decât gazdele lor obișnuite, enzimele de restricție din noua gazdă au distrus aproape tot ADN-ul fagului. Enzimele de restricție protejează o celulă bacteriană prin hidrolizarea ADN-ului fagului. ADN-ul bacterian este protejat de digestie deoarece celula metilează (adaugă grupări metil

la) unele dintre citozinele din ADN-ul său. Formele purificate ale acestor enzime bacteriene sunt folosite în laboratoarele de astăzi.

Ceea ce este important pentru tehnicile ADNr este că o enzimă de restricție recunoaște și taie, sau digeră, doar o anumită secvență de baze nucleotidice din ADN și taie această secvență în același mod de fiecare dată. Enzimele de restricție tipice utilizate în experimentele de clonare recunosc secvențe de patru, șase sau opt baze. Sunt cunoscute sute de enzime de restricție, fiecare producând fragmente de ADN cu capete caracteristice. Câteva enzime de restricție sunt enumerate în Tabelul 9.1. Puteți vedea că sunt numite după sursa lor bacteriană. Unele dintre aceste enzime (de exemplu, Hcielll) taie ambele catene de ADN în același loc, producând capete contondente, iar altele fac tăieturi eșalonate în cele două catene - tăieturi care nu sunt direct opuse una cu cealaltă (Figura 9.2). Aceste capete eșalonate, sau capete lipicioase, sunt cele mai utile în ADNr deoarece pot fi folosite pentru a uni două 1 bucăți diferite de ADN care au fost tăiate de aceeași restricție.

Enzima de restricție taie (săgeți roșii) ADN-ul dublu catenar la locurile sale specifice de recunoaștere, prezentate cu albastru.

ADN

Site-uri de recunoaștere

Taie I

GAATTC

Tăiați

CTTAAG

G*AATTC

CTTAAG

Î Tăiați

Î Tăiați

Figura 9.2 Rolul unei enzime de restricție în producerea ADN-ului recombinant.

De ce sunt folosite enzimele de restricție pentru a produce ADN recombinant?

Aceste tăieturi produc un fragment de ADN cu două capete lipicioase.

Când două astfel de fragmente de ADN tăiate de aceeași enzimă de restricție se unesc, ele se pot uni prin împerechere de baze.

GAATTC

Fragmentele unite vor forma de obicei fie o moleculă liniară, fie una circulară, așa cum se arată aici pentru o plasmidă. Pot apărea și alte combinații de fragmente.

AAT >

ar

TTAA

ADN recombinant

ALCA

CT TAAG

qTTAA q*

Enzima ADN ligaza este utilizată pentru a uni coloana vertebrală a celor două fragmente de ADN, producând o moleculă de ADN recombinat.

Enzime de restricție selectate utilizate

TABELUL S)»! în rDNATtechnology

enzimă, capetele lipicioase se „lipesc” de întinderi de ADN monocatenar prin împerechere complementară a bazelor.

Observați în Figura 9.2 că secvențele de baze mai întunecate de pe cele două catene sunt aceleași, dar rulează în direcții opuse. Tăieturile eșalonate lasă întinderi de ADN monocatenar la capetele fragmentelor de ADN. Dacă două fragmente de ADN din surse diferite au fost produse prin acțiunea aceleiași enzime ionice restul, cele două bucăți vor avea seturi identice de capete lipicioase şi pot fi îmbinate (recombinate) in vitro. Capetele lipicioase se unesc spontan prin legături de hidrogen (împerecherea bazelor). ■ Enzima I)NA ligaza este utilizată pentru a lega covalent coloana vertebrală a bucăților de ADN, producând o moleculă de ADNr. Animaţie

Tehnologia ADN recombinant .

Vectori

O mare varietate de diferite tipuri de molecule de ADN pot servi ca vectori, cu condiția ca acestea să aibă anumite proprietăţi. Proprietatea cea mai importantă este auto-replicarea; odată într-o celulă, un vector trebuie să fie capabil de a se replica. Orice ADN care este inserat în vector va fi replicat în acest proces. Astfel, vectorii servesc ca vehicule pentru replicarea secvenţelor de ADN dorite.

Vectorii trebuie, de asemenea, să aibă o dimensiune care să le permită manipularea în afara celulei în timpul procedurilor de ADN recombinant, vectorii mailer sunt mai ușor manipulați decât moleculele de ADN mai mari, care tind să fie mai fragile. Conservarea este o altă proprietate importantă a vectorilor. Forma circulară a moleculelor de ADN este importantă în protejarea ADN-ului vectorului de dest; acțiunea destinatarului vectorului.

Observați în Figura 9.3 că ADN-ul unei plasmide este circular. Un alt mecanism de conservare apare atunci când ADN-ul unui virus se inserează rapid în cromozomul gazdei (vezi capitolul 13, pagina 381).

Atunci când este necesar să se recupereze celulele care conțin vectorul, o genă marker conținută în vector poate ajuta adesea să faciliteze selecția. Genele marker selectabile comune sunt pentru rezistența la antibiotice sau pentru o enzimă care realizează o reacție ușor de identificat.

Plasmidele sunt unul dintre vectorii primari în uz, în special variante ale plasmidelor factorului R. ADN-ul plasmid poate fi tăiat cu aceleași enzime de restricție ca și ADN-ul care urmează să fie donat, astfel încât toate bucățile de ADN vor avea aceleași capete lipicioase. Când piesele sunt amestecate, ADN-ul de donat va fi inserat în plasmidă (Figura 9.2). Rețineți că pot apărea și alte combinații posibile de fragmente, inclusiv plasmida care reformează un cerc fără ADN inserat.

Unele plasmide sunt capabile să existe în mai multe specii diferite. Aceștia sunt numiți vectori navetă și pot fi utilizați pentru a muta secvențe de ADN clonat între organisme, cum ar fi printre celulele bacteriene, de drojdie și de mamifere sau printre celulele bacteriene, fungice și vegetale. Vectorii navetă pot fi foarte utili în procesul de modificare genetică a organismelor multicelulare, de exemplu, prin încercarea de a introduce gene de rezistență la erbicide în plante.

Un alt tip de vector este ADN-ul viral. Acest tip de vector poate accepta de obicei bucăți de ADN străine mult mai mari decât plasmidele. După ce ADN-ul a fost inserat în vectorul viral, acesta poate fi donat în celulele gazdă ale virusului. Alegerea unui vector adecvat depinde de mulți factori, inclusiv de organismul care va primi noua genă și de dimensiunea ADN-ului care urmează să fie donat. Retrovirusurile, adenovirusurile și herpesvirusurile sunt folosite pentru a introduce gene corective în celulele umane care au gene defecte. Terapia genică este discutată la pagina 258.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum sunt utilizate selecția și mutația în biotehnologie? 9- 3 Care este valoarea enzimelor de restricție în tehnologia ADN recombinant? 9-4 .

y* Ce criterii trebuie să îndeplinească un vector? 9-5

V* De ce este folosit un vector în tehnologia ADN-ului recombinant? 9-6

Figura 9.3 O plasmidă utilizată pentru clonare. Un vector plasmidic utilizat pentru concordare în bacteria E coli este pUC19. O origine de replicare (sau/) permite plasmidei să se auto-replica. Două gene, una care codifică rezistența la antibioticul ampicilină (ampR) și una care codifică enzima [3-galactozidaza (JacZ), servesc drept gene marker. ADN-ul străin poate fi inserat la situsurile enzimei de restricție.

Ce este un vector în tehnologia ADN recombinant?

Reacția în lanț a polimerazei

Reacția în lanț a polimerazei (PCR) este o tehnică prin care mostre mici de ADN pot fi rapid amplificate, adică mărite la cantități suficient de mari pentru analiză.

Începând cu o singură bucată de ADN de dimensiunea genei, PCR poate fi folosită pentru a face literalmente miliarde de copii în doar câteva ore. Procesul PCR este prezentat în Figura 9.4.

Q Fiecare catenă a ADN-ului țintă va servi ca matriță pentru sinteza ADN-ului.

C5 Acestui ADN se adaugă un aport din cele patru nucleotide (pentru asamblarea în ADN nou) și enzima pentru catalizarea sintezei, ADN polimeraza (vezi Capitolul 8, pagina 210). Bucăți scurte de acid nucleic numite primeri sunt, de asemenea, adăugate pentru a ajuta la începerea reacției. Primerii sunt complementari capetelor ADN-ului țintă și

© se va hibridiza cu fragmentele de amplificat.

-Apoi, polimeraza sintetizează noi catene complementare.

© După fiecare ciclu de sinteză, ADN-ul este încălzit pentru a converti tot noul I)NA în catene simple. Fiecare catenă de ADN nou sintetizată servește la rândul său ca șablon pentru mai mult ADN nou.

Ca urmare, procesul decurge exponențial. Toți reactivii necesari sunt adăugați într-un tub, care este plasat într-un termociclor. Termociclorul poate fi setat pentru temperaturile, timpii și numărul de cicluri dorite. Utilizarea unui termociclor automat este posibilă prin utilizarea ADN polimerazei

Adăugați primeri, nucleotide (deoxinucleotide, dNTP) și ADN polimerază.

Se incubează la 72°C timp de 1 minut; ADN polimeraza copiază ADN-ul țintă la această temperatură.

Cum diferă PCR cu transcripție inversă de această figură?

luate de la o bacterie termofilă precum Thermus aquaticus; .'.e enzima 1 rom astfel de organisme pot supraviețui fazei de încălzire fără a fi distruse. Treizeci de cicluri, finalizate în doar câteva ore, vor crește cantitatea de ADN țintă de peste un miliard de ori.

ADN-ul amplificat poate fi văzut prin electroforeză pe gel. În PCR în timp real sau PCR cantitativ (qPCR), ADN-ul nou făcut este marcat cu un colorant fluorescent, astfel încât nivelurile de fluorescență să poată fi măsurate după fiecare ciclu PCR (acesta este aspectul în timp real). O altă procedură PCR numită PCR cu revertranscripție utilizează ARN viral sau ARNm al unei celule ca șablon. Enzima, transcriptaza inversă, produce ADN din matrița de ARN, iar ADN-ul este apoi amplificat.

Rețineți că PCR poate fi utilizată numai pentru a amplifica secvențe relativ mici, specifice de ADN, așa cum este determinată de alegerea primerilor. Nu poate fi folosit pentru a amplifica un întreg genom.

PCR poate fi aplicată în orice situație care necesită amplificarea ADN-ului. Mai ales de remarcat sunt testele de diagnostic care folosesc PCR pentru a detecta prezența agenților infecțioși în situații în care altfel ar fi nedetectabili. Un test qPCR asigură identificarea rapidă a Mycobacterium tuberculosis rezistent la medicamente. Cultivarea acestei bacterii poate dura până la 6 săptămâni, lăsând pacienții netratați, (mm)' Animații PCR: Prezentare generală, componente, proces

Caz clinic

PCR cu transcripție inversă folosind un primer pentru o genă HIV poate fi utilizată pentru a amplifica analiza ADN-ului. Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC) intervievează cei șapte foști pacienți pentru a determina dacă istoricul lor arată factori de risc suplimentari pentru contractarea HIV. Cinci din șapte nu au niciun factor de risc identificați pentru HIV, în afară de faptul că au avut proceduri invazive efectuate asupra lor de către Dr. B. CDC efectuează apoi PCR cu transcripție inversă pe ADN din celulele albe din sângele periferic al Dr. B. și pe cei șapte pacienți HIV pozitivi (vezi figura).

Ce se poate concluziona din amplificarea PCR din figură?

■■g Pacienții

QABCDE FG

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

sau care este fiecare dintre următoarele utilizate în PCR: primer, ADN polimerază, 94°C? 9-7

Tehnici de modificare genetică

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

9-8 Descrieți cinci moduri de introducere a ADN-ului într-o celulă.

9-9 Descrieți cum se realizează o bibliotecă genomică.

9-10 Diferențierea ADNc de ADN sintetic.

9-11 Explicați cum se utilizează fiecare dintre următoarele pentru a localiza o clonă: gene de rezistență la antibiotice, sonde ADN, produse genetice.

9-12 Enumerați un avantaj al modificării fiecăruia dintre următoarele: E. coli, Saccharomyces cerevisiae, celule de mamifere, celule de plante.

Inserarea ADN-ului străin în celule

Procedurile ADN recombinant necesită ca moleculele de ADN să fie manipulate în afara celulei și apoi returnate la celulele vii. Există mai multe moduri de a introduce ADN-ul în celule. Alegerea metodei este determinată de obicei de tipul de vector și de celula gazdă utilizate.

În natură, plasmidele sunt de obicei transferate între microbii strâns înrudiți prin contact celulă la celulă, cum ar fi în conjugare. Ib modific o celulă, o plasmidă trebuie introdusă într-o celulă prin transformare, procedură în timpul căreia celulele pot prelua ADN din mediul înconjurător (vezi Capitolul 8, pagina 232). Multe tipuri de celule, inclusiv E. coli, drojdie și celule de mamifere, nu se transformă în mod natural; cu toate acestea, tratamentele chimice simple pot face ca toate aceste tipuri de celule să fie competente sau capabile să preia ADN extern. Pentru E. coli, procedura de a face celulele competente este de a le înmuia într-o soluție de clorură de calciu pentru o perioadă scurtă. În urma acestui tratament, celulele acum competente sunt amestecate cu ADN-ul clonat și li se administrează un șoc termic ușor. Unele dintre aceste celule vor prelua apoi ADN-ul.

Există și alte moduri de a transfera ADN-ul în celule. Un proces numit electroporare folosește un curent electric pentru a forma pori microscopici în membranele celulelor; ADN-ul intră apoi în celule prin pori. Electroporația este în general aplicabilă tuturor celulelor; cei cu pereți celulari trebuie adesea transformați în protoplaste. Protoplastele sunt produse prin îndepărtarea enzimatică a peretelui celular, permițând astfel un acces mai direct la membrana plasmatică.

Procesul de fuziune a protoplastelor profită și de proprietățile protoplastelor. Protoplastele în soluție fuzionează la o rată scăzută, dar semnificativă; adăugarea de polietilen glicol crește frecvența fuziunii (Figura 9.5a). În noua celulă hibridă, ADN-ul derivat din cele două celule „părinte" poate suferi o recombinare naturală. Această metodă este deosebit de valoroasă în manipularea genetică a celulelor plantelor și algelor (Figura 9.5b).

O modalitate remarcabilă de a introduce ADN străin în celulele plantei este să-l împușci literalmente direct prin celuloza groasă.

Cromozom

Membrana plasmatica

Peretele celular

Celulele bacteriene

Q Pereții celulari bacterieni sunt enzimatic

digerat, producând protoplaste.

@ Protoplastele fuzionează.

În soluție, protoplastele sunt tratate cu polietilen glicol.

Figura 9.6 Un pistol cu gene, care poate fi folosit pentru a introduce „gloanțe” acoperite cu ADN într-un tavan.

Segmentele celor doi cromozomi se recombină.

Celulă recombinantă

Numiți alte patru metode de inserare a ADN-ului într-o celulă.

Celula recombinantă crește perete celular nou.

(a) Procesul de fuziune a protoplastelor

Figura 9.5 Fuziunea protoplastelor, (a) O diagramă a fuziunii protoplastelor cu celule bacteriene, (b) Celulele algelor protoplaste sunt prezentate fuzionarea la săgeți.

Îndepărtarea peretelui celular a lăsat doar membranele plasmatice delicate, care se vor fuziona împreună, permițând schimbul de ADN.

Ce este un protoplast?

pereții folosind un pistol genetic (Figura 9.6). Particulele microscopice de wolfram sau aur sunt acoperite cu ADN și sunt propulsate de o explozie de heliu prin pereții celulelor plantei. Unele dintre celule exprimă ADN-ul introdus ca și cum ar fi al lor.

ADN-ul poate fi introdus direct într-o celulă animală prin microinjecție. Această tehnică necesită utilizarea unei micropipete de sticlă cu un diametru mult mai mic decât celula. Micropipeta perforează membrana plasmatică, iar prin ea poate fi injectat ADN (Figura 9.7).

Astfel, există o mare varietate de diferite enzime de restricţie, vectori și metode de inserare a ADN-ului în celule. Dar ADN-ul străin va supraviețui numai dacă este fie prezent pe un vector auto-replicator, fie încorporat într-unul dintre cromozomii celulei prin recombinare.

Obținerea ADN-ului

Am văzut cum genele pot fi donate în vectori prin folosirea enzimelor de rezistență și cum genele pot fi transformate sau transferate într-o varietate de tipuri de celule. Dar cum obțin biologii genele de care sunt interesați? Există două surse principale de gene: (1) biblioteci geno uice care conțin fie copii naturale ale genelor, fie copii ADNc ale genelor făcute din ARNm și (2) ADN sintetic.

Biblioteci genomice

Izolarea unor gene specifice ca bucăți individuale de ADN este rareori piactică. Prin urmare, cercetătorii interesați de gene dintr-un anumit organism încep prin extragerea ADN-ului organismelor, care poate fi obținut din celulele oricărui organism, fie că sunt plante, animale sau microbi, prin lizarea celulelor și precipitarea ADN-ului. Acest proces are ca rezultat o masă I)NA care include întregul organism

Figura 9.7 Microinjecția de ADN străin într-un ou. Oul este mai întâi imobilizat prin aplicarea unei aspirații ușoare pe pipeta mare, tocită, elding (dreapta). Câteva sute

de copii ale genei de interes sunt apoi injectate în nucleul celulei prin capătul mic al micropipetei (stânga).

Figura 9.8 Biblioteci genomice. Fiecare fragment de ADN, care conține aproximativ o genă, este purtat de un vector, fie o plasmidă într-o celulă bacteriană, fie un fag.

De ce

este microinjecția

nepractic pentru celulele bacteriene și fungice?

genomului. După ce ADN-ul este digerat de enzimele de restricție, fragmentele de restricție sunt apoi îmbinate în vectori plasmidi sau fagi, iar vectorii recombinanţi sunt introduși în celulele bacteriene. Scopul este de a face o colecție de clone suficient de mare pentru a se

asigura că există cel puțin o clonă pentru fiecare genă din organism. Această colecție de clone care conțin diferite fragmente de ADN se numește bibliotecă genomică; fiecare „carte” este o tulpină bacteriană sau fagică care conține un fragment al genomului (Figura 9.8). Astfel de biblioteci sunt esențiale pentru menținerea și extragerea clonelor de ADN; pot fi chiar achiziționate din comerț.

Clonarea genelor din organisme eucariote prezintă o problemă specifică. Genele celulelor eucariote conțin în general atât exoni, segmente de ADN care codifică proteine, cât și introni, segmente intermediare de ADN care nu codifică proteine. Când transcriptul ARN al unei astfel de gene este convertit în ARNm, intronii sunt îndepărtați (vezi Figura 8.11 la pagina 219). Pentru a clona gene ale celulelor eucariote, este de dorit să se utilizeze o versiune a genei care nu are introni, deoarece o genă care include introni poate fi prea mare pentru a putea lucra cu ușurință. În plus, dacă o astfel de genă este introdusă într-o celulă bacteriană, bacteria nu va putea, de obicei, să elimine intronii din transcriptul ARN și, prin urmare, nu va putea produce produsul proteic corect. Cu toate acestea, o genă artificială care conține doar exoni poate fi produsă prin utilizarea unei enzime numită transcriptază inversă pentru a sintetiza ADN complementar (ADNc) dintr-un șablon de ARNm (Figura 9.9). Această sinteză este inversul procesului normal de transcripție ADN-ARN. O copie ADN a ARNm este produsă de transcriptază inversă. După aceasta, ARNm este digerat enzimatic. ADN

polimeraza sintetizează apoi o catenă complementară de ADN, creând o bucată dublu catenară de ADN care conține informațiile din ARNm. Moleculele de ADNc produse dintr-un amestec de toate ARNm dintr-un tip de țesut sau celulă pot fi apoi donate pentru a forma o bibliotecă de ADNc.

Metoda cADN-ului este cea mai comună metodă de obținere a genelor eucariote. O dificultate cu această metodă este că moleculele lungi de ARNm pot să nu fie complet transcrise invers în ADN; transcrierea inversă avortează adesea, formând doar părți din gena dorită.

ADN sintetic

În anumite circumstanțe, genele pot fi făcute in vitro cu ajutorul mașinilor de sinteză a ADN-ului (Figura 9.10). O tastatură de pe aparat este folosită pentru a introduce secvența dorită de nucleotide, la fel cum literele sunt introduse într-un procesor de text pentru a compune o propoziție. Un microprocesor controlează sinteza ADN-ului din sursele stocate de nucleotide și din ceilalți reactivi necesari. Un lanț de aproximativ 120 de nucleotide poate fi sintetizat prin această metodă. Cu excepția cazului în care gena este foarte mică, cel puțin mai multe lanțuri trebuie sintetizate separat și legate între ele pentru a forma o genă întreagă.

Dificultatea acestei abordări, desigur, este că secvența genei trebuie cunoscută înainte de a putea fi sintetizată. Dacă gena nu a fost deja izolată, atunci singura modalitate de a prezice secvența ADN este prin cunoașterea secvenței de aminoacizi a produsului proteic al genei. Dacă această secvență de aminoacizi este

m ADN polimeraza este adăugată pentru a sintetiza a doua catenă de ADN.

cADN al genei fără introni

Cum diferă transcriptaza inversă de ADN polimeraza?

cunoscut, în principiu se poate lucra înapoi prin codul genetic pentru a obține secvența ADN. Din păcate, degenerarea codului împiedică o determinare fără ambiguitate; astfel, dacă proteina conține o leucină, de exemplu, care dintre cei șase codoni pentru leucină este cel din genă?

Din aceste motive, este rar să se cloneze o genă prin sintetizarea ei directă, deși unele produse comerciale, cum ar fi insulina, interferonul și somatostatina, sunt produse din gene sintetizate chimic. Siturile de restricţie dorite au fost adăugate la genele sintetice astfel încât genele să poată fi inserate în vectori plasmidici pentru donarea în E. coli. ADN-ul sintetic joacă un rol mult mai util în procedurile de selecție, după cum vom vedea.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Comparați cele cinci moduri de introducere a ADN-ului într-o celulă. 9-8

Care este scopul unei biblioteci genomice? 9-9

De ce ADNc-ul nu este sintetic? 9-10

Caz clinic

Primerul amplifică toate cele opt probe și confirmă că Dr. B. și șapte dintre foștii săi pacienți sunt toți infectați cu HIV. Apoi CDC secvențiază ADN-ul amplificat și compară secvențierea cu un izolat HIV din Cleveland (control local) și un izolat din Haiti (valor aberant). O parte a codării (5’ până la 3’) este prezentată mai jos.

Care este procentul de asemănare dintre viruși?

Selectarea unei clone

La clonare, este necesar să se selecteze celula particulară care conține gena specifică de interes. Acest lucru este dificil deoarece din milioane de celule, doar câteva celule ar putea

conține gena dorită. Aici examinăm o procedură tipică de screening cunoscută sub numele de screening albastru-alb, din culoarea coloniilor bacteriene formate la sfârșitul procesului de screening.

. <■. piasniiki \ecior folosit conține o genă (amp^) care codifică rezistența la antibioticul ampicilină. Bacteria gazdă nu va putea crește pe mediul de testare, care conține ampicilină, decât dacă vectorul a transferat gena de rezistență la ampicilină. ■■■■ ■ conține și o a doua genă, aceasta pentru

enzima Ș-galactozidază (ZacZ). Observați în Figura 9.3 că există mai multe situsuri în lacZ care pot fi tăiate de enzimele de restricție.

Procedura este prezentată în Figura 9.11. Cele două gene, numite gene marker, sunt folosite astfel încât să poată fi determinată inserția ADN-ului plasmid în bacteria gazdă. În procedura de screening albastru-alb, o bibliotecă de bacterii este cultivată într-un mediu numit X-gal. X-gal conține două componente esențiale, altele decât cele necesare pentru a susține creșterea bacteriană normală. Unul este antibioticul ampicilina, care previne creșterea oricărei bacterii care nu a primit cu succes gena de rezistență la ampicilină din plasmidă. Celălalt, numit X-gal, este un substrat pentru [3-galactozidază.

Doar bacteriile care au preluat plasmida vor crește - pentru că acum sunt rezistente la ampicilină. Bacteriile care au preluat plasmida recombinantă - în care noua genă a fost inserată în gena lacZ - nu vor hidroliza lactoza și vor produce colonii albe. Dacă o bacterie a primit plasmida originală care conține gena lacZ intactă, celulele vor hidroliza X-gal pentru a produce un compus de culoare albastră; colonia va fi albastră.

Ceea ce rămâne de făcut poate fi încă dificil. Procedura de mai sus a izolat colonii albe despre care se știe că conțin ADN străin, dar încă nu se știe dacă acesta este fragmentul dorit de ADN străin. Este necesară o a doua procedură pentru a identifica aceste bacterii. Dacă ADN-ul străin din plasmidă codifică pentru producerea unui produs identificabil, izolatul bacterian trebuie doar cultivat în cultură și testat. Cu toate acestea, în unele cazuri, gena în sine trebuie identificată în bacteria gazdă.

Hibridizarea coloniilor este o metodă comună de identificare a celulelor care poartă o anumită genă donată. Sunt sintetizate sonde ADN, segmente scurte de ADN monocatenar care sunt complementare genei dorite. Dacă sonda ADN găsește o potrivire, aceasta va adera la gena țintă. Sonda ADN este marcată cu o enzimă sau colorant fluorescent, astfel încât prezența acesteia să poată fi detectată. Un experiment tipic de hibridizare a coloniei este prezentat în Figura 9.12. O serie de sonde ADN aranjate într-un cip ADN poate fi utilizată pentru a identifica agenții patogeni (vezi Figura 10.17, pagina 292).

Realizarea unui produs genetic

Tocmai am văzut cum să identificăm celulele care poartă o anumită genă. Produsele genetice sunt frecvent obiectivul modificării genetice. Cele mai multe dintre cele mai vechi lucrări în modificarea genetică utilizate

Rezistenta la ampicilina

gena (ampR)

ADN-ul plasmidic și ADN-ul străin sunt tăiați ambele cu aceeași enzimă de restricție. Plasmida are genele pentru hidroliza lactozei (gena lacZ codifică enzima P-galactozidaza) și rezistență la ampicilină.

Toate bacteriile tratate sunt răspândite pe o placă de agar nutritiv care conține ampicilină și un substrat de P-galactozidază și incubate. Substratul P-galactozidazei se numește X-gal.

Doar bacteriile care au preluat plasmida vor crește în prezența ampicilinei. Sacteriile care hidrolizează X-gal produc galactoză și un compus indigo. Indigoul face coloniile albastre. Bacteriile care nu pot hidroliza X-gal produc colonii albe.

Figura 9.11 Screening albastru-alb, o metodă de selectare a bacteriilor recombinante.

unele colonii sunt albastre, iar altele sunt albe?

E. coli pentru a sintetiza produsele genetice. E. coli este ușor de cultivat, iar cercetătorii sunt foarte familiarizați cu această bacterie și cu genetica ei. De exemplu, unii promotori inductibili, cum ar fi cel al operonului lac, au fost donați, iar genele donate pot fi atașate la astfel de promotori. Sinteza unor cantități mari de produs genic donat poate fi apoi direcționată prin adăugarea unui inductor. O astfel de metodă a fost folosită pentru a produce interferon gamma în E. coli (Figura 9.13). Cu toate acestea, E. coli are și câteva dezavantaje. Ca și alte bacterii gram-negative, produce endotoxine ca parte a stratului exterior al peretelui celular. Deoarece endotoxinele provoacă febră și șoc la mamifere, prezența lor accidentală în produsele destinate uzului uman ar fi o problemă serioasă.

Care este unul dintre avantajele utilizării E. coli pentru inginerie genetică? Un dezavantaj?

Un alt dezavantaj al E. coli este că de obicei nu secretă produse proteice. Pentru a obține un produs, celulele trebuie să fie de obicei sparte și purificat din supa rezultată de componente celulare. Recuperarea produsului dintr-un astfel de amestec este costisitoare atunci când este făcută la scară industrială subtilis, au mai multe șanse să-și secrete produsele și sunt adesea preferate industrial din acest motiv.

Un alt microb folosit ca vehicul pentru exprimarea ADNr este drojdia de panificație, Saccharomyces cerevisiae. Genomul său este doar de aproximativ patru ori mai mare decât cel al E. coli și este probabil cel mai bine înțeles genomul eucariotic. Drojdiile pot transporta plasmide, iar plasmidele sunt ușor transferate în celulele de drojdie după ce pereții lor celulari au fost îndepărtați. Ca celule eucariote, drojdiile pot avea mai mult succes în

exprimarea genelor eucariote străine decât bacteriile. Mai mult, drojdiile sunt susceptibile de a secreta continuu produsul. Din cauza tuturor acestor factori, drojdiile au devenit calul de bătaie eucariot al biotehnologiei.

Celulele de mamifere din cultură, chiar și celulele umane, pot fi modificate genetic la fel ca bacteriile pentru a produce diferite produse. Oamenii de știință au dezvoltat metode eficiente de creștere a anumitor celule de mamifere în cultură ca gazde pentru creșterea virusurilor (vezi capitolul 13, pagina 379). Celulele de mamifere sunt adesea cele mai potrivite pentru a face produse proteice pentru uz medical, deoarece celulele își secretă produsele și există un risc scăzut de toxine sau alergeni. Utilizarea celulelor de mamifere pentru a produce gene străine

produse la scară industrială necesită adesea o etapă preliminară de clonare a genei în bacterii. Luați în considerare exemplul factorului de stimulare a colom ■ (LCR). O proteină produsă în mod natural în cantități mici de celulele albe din sânge, CSF este valoroasă deoarece stimulează creșterea anumitor celule care protejează împotriva infecțiilor. Pentru a produce industrial cantități uriașe de LCR, gena este mai întâi inserată într-o plasmidă, iar bacteriile sunt folosite pentru a face copii multiple ale plasmidei (vezi Figura 9.1). Plasmidele recombinante sunt inserate în celule de mamifere care sunt crescute în sticle.

Celulele vegetale pot fi, de asemenea, crescute în cultură, modificate prin tehnici ADN recombinant și apoi utilizate pentru a genera plante modificate genetic. Astfel de plante se pot dovedi utile ca surse de produse valoroase, cum ar fi alcaloizii din plante (codeina analgezică, de exemplu), izoprenoizii care stau la baza cauciucului sintetic și ifielâriina (pigmentul pielii animalelor) pentru utilizare în cremele solare. Plantele modificate genetic au multe avantaje pentru producerea de agenți terapeutici umani, inclusiv vaccinuri și anticorpi, avantajele includ producția pe scară largă, cu costuri reduse folosind agricultură și risc scăzut de contaminare a produsului cu agenți patogeni de mamifere sau gene cauzatoare de cancer. Modificarea genetică a plantelor necesită adesea utilizarea unei bacterii. Vom reveni la subiectul plantelor modificate genetic mai târziu în capitol (pagina 263).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

V* Cum sunt identificate clonele recombinante? 9-11

V* Ce tipuri de celule sunt folosite pentru clonarea ADNr-ului? 9-12

Caz clinic

Secvențele de la Dr. B. și pacienții A, B, C, E și G au 87,5% din secvența de nucleotide, ceea ce este comparabil cu similaritățile raportate pentru infecțiile legate cunoscute.

Identificați aminoacizii codificați de ADN-ul viral. A schimbat acest lucru procentul de similaritate? (Sugestie: Consultați Figura 8.8 la pagina 215).

Aplicații ale tehnologiei ADN

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

9-13 Enumerați cel puțin cinci aplicații ale tehnologiei ADN.

9-14 Definiți ARNi.

9-15 Discutați valoarea proiectelor genomului.

9-16 Definiți următorii termeni: secvențiere aleatorie a puștilor, bioinformatică, proteomică.

9-17 Diagramați procedura Southern blotting și furnizați un exemplu de utilizare a acesteia.

9-18 Diagramați amprentarea ADN și oferiți un exemplu de utilizare a acesteia. 9-19 Schițați ingineria genetică cu Agrobacterium.

Am descris acum întreaga secvență de evenimente în clonarea unei gene. După cum sa indicat mai devreme, astfel de gene clonate pot fi aplicate într-o varietate de moduri. Una este de a produce substanțe utile mai eficient și mai puțin costisitor (vezi caseta din Capitolul 1, pagina 3). Un altul este de a obține informații din ADN-ul clonat care sunt utile fie pentru cercetare de bază, medicină sau criminalistică. Un al treilea este folosirea genelor clonate pentru a modifica caracteristicile celulelor sau organismelor. Caseta din Capitolul 27, pagina 786, descrie utilizarea celulelor recombinante pentru detectarea poluanților.

Aplicații terapeutice

Un produs farmaceutic extrem de valoros este hormonul insulina, o proteină mică produsă de pancreas care controlează absorbția de glucoză din sânge de către organism. De mulți ani, persoanele cu diabet zaharat insulino-dependent și-au controlat boala prin injectarea de insulină obținută din pancreasul animalelor sacrificate. Obținerea acestei insuline este un proces costisitor, iar insulina de la animale nu este la fel de eficientă ca insulina umană.

Din cauza valorii insulinei umane și a dimensiunii mici a proteinei, producerea de insulină umană prin tehnici ADN recombinant a fost un obiectiv timpuriu pentru industria farmaceutică. Pentru a produce hormonul, genele sintetice au fost mai întâi construite pentru fiecare dintre cele două lanțuri polipeptidice scurte care alcătuiesc molecula de insulină. Dimensiunea redusă a acestor lanțuri – cu numai 21 și 30 de aminoacizi – a făcut posibilă utilizarea genelor sintetice. Urmând procedura descrisă mai devreme (pagina 255), fiecare dintre cele două gene sintetice a fost introdusă într-un vector plasmidic și legată de capătul unei gene care codifică enzima bacteriană (^-galactozidaza, astfel încât polipeptida de insulină a fost coprodusă cu enzima. Au fost utilizate două culturi bacteriene de E. coli diferite, una pentru a produce fiecare polipeptidă din chasulă. bacteriile, separate de ^-galactozidază și unite chimic pentru a produce insulină umană. Această realizare a fost unul dintre primele succese comerciale ale tehnologiei ADN și ilustrează o serie de principii și proceduri discutate în acest capitol.

Un alt hormon uman care este acum produs comercial prin modificarea genetică a E. coli este somatostatina. La un moment dat, era nevoie de 500.000 de creiere de oaie pentru a produce 5 mg de somatostatina animală în scopuri experimentale. În schimb, doar 8 litri dintr-o cultură bacteriană modificată genetic sunt acum necesari pentru a obține o cantitate echivalentă de hormon uman.

Vaccinurile subunităților, constând doar dintr-o porțiune proteică a unui agent patogen, sunt produse prin modificarea genetică a drojdiilor. Vaccinurile subunităților au fost produse pentru o serie de boli, în special hepatita B. Unul dintre avantajele unui vaccin subunitar este că nu există nicio șansă de a fi infectat cu vaccinul. Proteina este recoltată din celule modificate genetic și purificată pentru a fi utilizată ca vaccin. Virusurile animale, cum ar fi virusul vaccinia, pot fi modificate genetic pentru a transporta o genă pentru proteina de suprafață a altui microbi. Când este injectat, virusul acționează ca un vaccin împotriva celuilalt microbi.

Nucleu

ADN

O genă anormală, o genă a cancerului sau o genă a virusului este transcrisă într-o celulă gazdă.

Citoplasma

Nu are loc expresia proteinei.

Figura 9.14 Silenciarea genelor ar putea oferi tratamente pentru o gamă largă de boli.

terapia a fost utilizată pentru tratarea hemofiliei B și a imunodeficienței combinate severe. Adenovirusurile și retrovirusurile sunt folosite cel mai adesea pentru a furniza gene; cu toate acestea, unii cercetători lucrează cu vectori plasmidii. Prima terapie genică pentru tratarea hemofiliei la om a fost făcută în 1990. Un retrovirus atenuat a fost folosit ca vector. Mai multe studii de terapie genică sunt în desfășurare folosind adenovirusul modificat genetic purtător de gena umană p53 pentru a trata o varietate de tipuri de cancer. Gena p53, care codifică o proteină de suprimare a tumorii, este gena cel mai frecvent mutată în celulele canceroase.

Până acum, rezultatele terapiei genice nu au fost impresionante; au existat câteva decese atribuite vectorilor virali. Există o mulțime de lucrări preliminare de făcut și este posibil ca vindecarea să nu fie posibilă pentru toate bolile genetice. ADN-ul antisens (vezi pagina 266) introdus în celule este, de asemenea, explorat pentru a trata hepatita, cancerul de piele și colesterolul mgh.

Silenciarea genelor este un proces natural care are loc într-o mare varietate de eucariote și este aparent o apărare împotriva virușilor și transpozonilor. Silenciarea genelor este similară cu miARN (pagina 222) prin aceea că este transcrisă o genă care codifică o mică bucată de ARN. În urma transcripției, ARN-urile numite ARN interferențe mici (siARN) sunt formate după procesare de către o enzimă numită Dicer. Moleculele de ARNsi se leagă de ARNm, provocând distrugerea sa enzimatică de către proteine numite complex de tăcere indusă de ARN (RISC) și astfel reducând la tăcere expresia unei gene (Figura 9.14). O nouă tehnologie numită interferență ARN (ARNi) este promițătoare pentru terapia genică și tratarea cancerului și a infecțiilor virale.

ARNi acționează în timpul sau după transcripție?

Vaccinurile ADN sunt de obicei plasmide circulare care includ o genă care codifică o proteină virală sub controlul transcripțional al unei regiuni promotoare active în celulele umane. Plasmidele sunt donate în bacterii. Mai multe vaccinuri testate împotriva HIV, SARS, gripă și malarie sunt în curs de testare. Vaccinurile sunt discutate în capitolul 18 (pagina 505). Tabelul 9.2 enumeră alte produse importante ADNr utilizate în terapia medicală.

Importanța tehnologiei ADN recombinant pentru cercetarea medicală nu poate fi subliniată suficient. Sângele artificial pentru utilizarea în transfuzii poate fi acum preparat folosind hemoglobina umană produsă la porcii modificați genetic. Oile au fost, de asemenea, modificate genetic pentru a produce o serie de medicamente în laptele lor. Această procedură nu are niciun efect aparent asupra oilor și oferă o sursă gata de materie primă pentru produs, care nu necesită sacrificarea animalelor.

Terapia genică poate oferi în cele din urmă remedii pentru unele boli genetice. Este posibil să ne imaginăm îndepărtarea unor celule de la o persoană și transformarea lor cu o genă normală pentru a înlocui o genă defecte sau mutante. Când aceste celule sunt returnate persoanei, ele ar trebui să funcționeze normal. De exemplu, gena

Caz clinic rezolvat

adică secvența de aminoacizi reflectă secvența de nucleotide. Analiza tiparului semnăturii aminoacizilor confirmă faptul că ■ ■ azele ; dentistul și pacienții sunt strâns înrudiți. HIV are o rată de mutație F tgh, astfel încât HIV de la diferiți indivizi sunt genetic distincte. HIV-ul Dr. B. este diferit de cel local ■■ oi : 1 şi de cel aberant. Secvențele de aminoacizi ale Dr. B. și t1 ■ se ale pacienților A, B, C, E și G sunt distincte de cele din control și din situația anormală și de la doi pacienți stomatologici cu riscuri comportamentale cunoscute pentru infecția cu HIV.

Analiza PC f și RFLP a făcut posibilă urmărirea transmiterii bolilor între indivizi, comunități și țări. Această urmărire funcționează cel mai bine cu agenți patogeni care au suficientă variație genetică pentru a identifica diferiți; ■ dins. Deși dr. B. cedează în cele din urmă bolii sale, cei cinci foști ai săi pacienți au urmat regimuri de tratament HIV de când a fost testat pozitiv și, până acum, nu par să fie în pericol de a evolua spre SIDA.

TABEL ^«>2 Unele produse farmaceutice ale ADNr

interferonul

Uz veterinar

La șoareci, ARNi s-a dovedit că inhibă virusul hepatitei B. ARNsi poate fi injectat într-un cel) sau introdus într-un vector ADN. Un mic insert de ADN care codifică ARNsi împotriva genei de interes ar putea fi donat într-un vector ADN. Când este transferată într-o celulă, celula ar produce siARN-ul dorit.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Explicați modul în care tehnologia ADN poate fi utilizată pentru a trata bolile și pentru a preveni bolile. 9-13

Ce este tăcere genetică? 9-14

Proiecte de genom

Primul genom care a fost secvențiat a fost genomul mic de la un bacteriofag. Asta s-a întâmplat în 1977. În 1995, genomul unei celule cu viață liberă - Haemophilus influenzae - a fost secvențial. De atunci, au fost secvențiați 1000 de genomi procarioți și peste 400 de genomi eucarioți. A fost secvențierea cu pușcă care a permis oamenilor de știință să secvențeze genomul unei celule cu viață liberă. În secvențierea cu pușcă, bucăți mici ale unui genom sunt secvențiate, iar secvențele sunt apoi asamblate folosind un computer. Orice goluri dintre piese trebuie apoi găsite și ordonate (Figura 9 j). Această tehnică poate fi utilizată pe probe de mediu pentru a studia genomurile microorganismelor care nu au fost cultivate. Studiul materialului genetic prelevat direct din probele de mediu se numește metagenomică.

Proiectul genomului uman a fost un efort internațional de 13 ani, început oficial în octombrie 1990 și finalizat în 2003.

Scopul acestui proiect a fost de a secvenționa întregul genom uman, aproximativ 3 miliarde de perechi de nucleotide, cuprinzând între 20.000 și 25.000 de gene. La acest proiect au participat mii de oameni din 18 țări. Cercetătorii au colectat probe de sânge (feminin) sau spermă (masculin) de la un număr mare de donatori. Doar câteva mostre au fost procesate ca resurse ADN, iar numele surselor sunt protejate, astfel încât nici donatorii, nici oamenii de știință să nu știe ale cui probe au fost folosite. Dezvoltarea secvențierii puștilor a accelerat foarte mult procesul, iar genomul este aproape complet.

O descoperire surprinzătoare a fost că mai puțin de 2% din genom codifică un produs funcțional – celelalte 98% includ gene miARN, rămășițe virale, secvențe repetitive (numite repetiții scurte în tandem), introni, capetele cromozomilor (numite telomeri) și transpozoni (pagina 237). În prezent, cercetătorii localizează anumite gene și le determină funcțiile.

Următorul obiectiv al cercetătorilor este Human Proteome Project, care va cartografi toate proteinele exprimate în celulele umane. Chiar înainte de a fi finalizat, totuși, furnizează date care sunt de o valoare imensă pentru înțelegerea noastră a biologiei. De asemenea, în cele din urmă va fi de mare beneficiu medical, în special pentru diagnosticarea și tratamentul bolilor genetice.

Aplicații științifice

Tehnologia ADN-ului recombinant poate fi folosită pentru a face produse, dar aceasta nu este singura sa aplicație importantă. Datorită capacității sale de a produce multe copii ale ADN-ului, poate servi ca un fel de tipar de tip ADN. Odată o cantitate mare dintr-o anumită bucată de ADN

.fj Asamblați secvențe.

o ⍰ ⍰ ⍰ ar~inn

eu

(a) Construirea unei biblioteci de gene

(b) Secvențiere aleatorie

(c) Faza de închidere

:figura 9.15 Secvențierea puștilor. În această tehnică, un genom este tăiat în bucăți și fiecare bucată este secvențială. Apoi piesele se potrivesc. Pot exista lacune dacă un fragment specific de ADN nu a fost secvențiat.

Această tehnică identifică genele și locațiile lor?

este disponibil, diverse tehnici analitice, discutate în această secțiune, pot fi folosite pentru a citi" informațiile conținute în ADN.

În 2010, cercetătorii Proiectului Minimal Genome au sintetizat o copie a întregului genom Mycoplasma mycoides și au transplantat-o într-o celulă de M. capricolum căreia i-a fost îndepărtat ADN-ul. Celula modificată a produs proteine M. mycoides. Acest experiment a arătat că se pot face modificări pe scară largă la un genom și că o celulă existentă va accepta acest ADN.

Secvențierea ADN-ului a produs o cantitate enormă de informații care a dat naștere noului domeniu al bioinformaticii, știința de a înțelege funcția genelor prin analiză asistată de computer. Secvențele de ADN sunt stocate în baze de date bazate pe web, denumite GenBank. Informațiile genomice pot fi căutate cu programe de calculator pentru a găsi secvențe specifice sau pentru a căuta modele similare în genomul diferitelor organisme. Genele microbiene sunt acum căutate pentru a identifica molecule care sunt factorii de virulență ai agenților patogeni. Comparând genomurile, cercetătorii au descoperit că Chlamydia trachomatis (tra-kd' ma-tis) produce o toxină similară cu cea a Clostridium difficile (dif'fi-se-il).

Următorul obiectiv este de a identifica proteinele codificate de aceste gene. Proteomica este știința determinării tuturor proteinelor exprimate într-o celulă.

Genetica inversă este o abordare pentru a descoperi funcția unei gene dintr-o secvență genetică. Genetica inversă încearcă să conecteze o anumită secvență genetică cu efecte specifice asupra organismului. De exemplu, dacă mutați sau blocați o genă (vezi discuția despre tăcere genetică la pagina 258), puteți căuta apoi o caracteristică pe care organismul a pierdut-o.

Un exemplu de utilizare a secvențierii ADN-ului uman este identificarea și clonarea genei mutante care provoacă fibroza chistică (FO). OF se caracterizează prin suprasecreția de mucus, care duce la blocarea căilor respiratorii. Secvența genei mutante poate fi utilizată ca instrument de diagnostic într-o tehnică de hibridizare numită Southern blotting (Figura 9.16), numită după Ed Southern, care a dezvoltat tehnica în 1975.

În această tehnică,

0 ADN uman este mai întâi digerat cu o enzimă de restricție, producând mii de fragmente de diferite dimensiuni. „Diferitele fragmente sunt apoi separate prin electroforeză pe gel.

0 Fragmentele sunt puse într-un godeu la un capăt al unui strat de gel de agaroză. Atunci când un curent electric este trecut prin gel. În timp ce încărcarea este aplicată, bucățile de ADN de diferite dimensiuni migrează prin gel la viteze diferite. Fragmentele se numesc RFLP (pronunțat „rif-lip"), pentru polimorfisme de lungime a fragmentelor de restricție.

0-0 Fragmentele separate sunt transferate pe un filtru prin blotting.

Fragmentele de pe filtru sunt apoi expuse la o sondă marcată făcută din gena donată de interes, în acest caz gena CF. Sonda se va hibridiza cu această genă mutantă, dar nu cu gena normală.

0 Fragmentele de care se leagă sonda sunt identificate prin fluorescență sau un colorant colorat. Cu această metodă, ADN-ul oricărei persoane poate fi testat pentru prezența genei mutante.

Testarea genetică poate fi acum utilizată pentru a detecta câteva sute de boli genetice. Astfel de proceduri de screening pot fi efectuate pe viitorii părinți și, de asemenea, pe țesutul fetal. Două dintre genele mai frecvent examinate sunt cele asociate cu formele moștenite de cancer de sân și gena responsabilă pentru boala Huntington. Testarea genetică poate ajuta un medic să prescrie medicamentul corect pentru un pacient. Medicamentul herceptin, de exemplu, este eficient numai la pacienții cu cancer de sân cu o secvență specifică de nucleotide în gena HER2.

Microbiologie criminalistică

Timp de câțiva ani, microbiologii au folosit RFLP într-o metodă de identificare cunoscută sub numele de amprentă ADN pentru a identifica agenții patogeni bacterieni sau virali (Figura 9.17).

Acum sunt utilizate cipurile DN A (vezi Figura 10.17, pagina 292) și micromatrice PCR care pot analiza o probă pentru mai mulți agenți patogeni simultan. Într-o microarray PCR, se pot utiliza până la 22 de primeri de la diferite microorganisme pentru a iniția PCR. Un microorganism suspect este identificat dacă ADN-ul este copiat de la unul dintre primeri. La Centers for Disease Control and Prevention ((.DC), PulseNet folosește RFLP-uri pentru a urmări focarele de boli de origine alimentară. În unele cazuri, PCR folosind primeri specifici poate fi utilizat pentru a urmări o tulpină bacteriană pentru a localiza sursa unui focar.

Genomica agenților patogeni a devenit un element de bază al monitorizării, prevenirii și controlului bolilor infecțioase. Folosirea genomicii pentru a depista un focar de boală este descrisă în caseta de la pagina 265. Noul domeniu al microbiologiei criminalistice s-a dezvoltat deoarece spitalele, producătorii de alimente și persoanele fizice pot fi chemate în judecată în instanțe și pentru că microorganismele pot fi folosite ca arme. Criminalistica microbiană a fost folosită în instanță de câteva ori. În anii 1990, amprentele ADN ale HIV au fost folosite pentru prima dată pentru a obține o condamnare pentru viol. De atunci, un medic a fost condamnat pentru injectarea fostului său iubit cu HIV de la unul dintre

pacienții săi, pe baza amprentei ADN a HIV. În atacurile cu antrax din 2001 din Statele Unite, amprentele ADN ale Bacillus anthracis au fost folosite pentru a urmări sursa și apoi presupusul atacator. Cercetătorii de la Universitatea Northern Arizona au stabilit că endosporii de B. anthracis utilizați într-un atac din 1993 de către un cult din Japonia erau de fapt o tulpină de vaccin nepatogene. Nimeni nu a fost rănit când acei endospori au fost eliberați. În prezent, o bază de date ADN este în curs de dezvoltare pentru microorganisme care ar putea fi utilizate în crimele biologice.

„Cerințele pentru a dovedi în instanță sursa unui microbi sunt mai stricte decât pentru comunitatea medicală. De exemplu, pentru a dovedi intenția de a comite un prejudiciu necesită strângerea adecvată a probelor și stabilirea unui lanț de custodie a acestor probe.

(dacă) ADN-ul care conține gena de interes este extras din celule umane și tăiat în fragmente de către enzimele de restricție.

0 Fragmentele sunt separate în funcție de dimensiune prin electroforeză pe gel. Fiecare bandă constă din mai multe copii ale unui anumit fragment de ADN. Benzile sunt invizibile, dar pot fi făcute vizibile prin colorare.

Gel

a filtra

0 Benzile de ADN sunt transferate pe un filtru de nitroceluloză prin blotting. Soluția trece prin gel și se filtrează pe prosoapele de hârtie prin acțiune capilară.

Aceasta produce un filtru de nitroceluloză cu fragmente „>NA poziționate exact ca pe gel.

0 Filtrul este expus la o sondă marcată pentru o anumită genă. Sonda se va perechi de baze (hibrida) cu o secvență scurtă prezentă pe genă.

) Fragmentul care conține gena de interes este identificat printr-o bandă pe filtru.

Figura 9.16 Southern blot.

Izolate de E. coli de la pacienți ale căror infecții nu au fost legate de suc

Ce este microbiologia criminalistică?

Proprietățile microbiene care nu sunt importante pentru sănătatea publică pot fi indicii importante în investigațiile criminalistice. Academia Americană de Microbiologie a propus recent certificarea profesională în microbiologie criminalistică.

ADN-ul poate fi extras adesea din materiale conservate și fosilizate, inclusiv mumii și plante și animale dispărute. Deși un astfel de material este foarte rar şi, de obicei, parţial degradat, PCR le permite cercetătorilor să studieze medii și organisme care nu mai există în forma lor naturală, studiul organismelor neobișnuite a condus, de asemenea, la progrese în taxonomia de bază; acest lucru va fi discutat în capitolul 10.

Nanotehnologie

Nanotehnologia se ocupă cu proiectarea și fabricarea de circuite electronice extrem de mici și dispozitive mecanice construite la nivel molecular al materiei. Roboții sau computerele de dimensiunea unei molecule pot fi utilizați pentru a detecta contaminarea în alimente, bolile plantelor sau armele biologice. Cu toate acestea, mașinile mici necesită fire și componente mici (un nanometru este de 10-9 metri; 1000 nm se potrivesc în 1 pm). Bacteriile pot furniza metalele mici necesare. Cercetătorii de la US Geological Survey au cultivat mai multe bacterii anaerobe care reduc seleniul toxic, Se4+, la Se° elementar netoxic, care se formează în nanosfere (Figura 9.18). Cercetătorii folosesc bacterii pentru

J Ce ar putea oferi bacteriile pentru nanotehnologie?

produce nanosfere pentru potențialele țintire și livrare a medicamentelor. Cercetătorii de la Departamentul de Energie al SUA folosesc bacterii în circuite electrice la scară nanometrică pentru a produce hidrogen gazos. Cercetătorii suedezi folosesc Acetobacter xylinum pentru a construi nanofibre de celuloză pentru vasele de sânge artificiale.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Cum sunt secvențierea puștilor, bioinformatica și proteomica legate de proiectele genomului? 9-15,9-16

Ce este Southern blot? 9-17

1^ De ce RFLP-urile duc la o amprentă ADN? 9-18

Aplicații agricole

Procesul de selectare a plantelor dorite genetic a fost întotdeauna unul care a consumat timp. Efectuarea încrucișărilor convenționale de plante este laborioasă și presupune așteptarea germinării semințelor plantate și a maturizării plantei. Ameliorarea plantelor a fost revoluționată prin utilizarea celulelor vegetale crescute în cultură. Clonele de celule vegetale, inclusiv celulele care au fost modificate genetic prin tehnici de ADN recombinant, pot fi cultivate în număr mare. Aceste celule pot fi apoi induse să regenereze plante întregi, din care pot fi recoltate semințele.

ADN-ul recombinant poate fi introdus în celulele vegetale în mai multe moduri. Anterior am menționat fuziunea protoplastelor și utilizarea „gloanțelor” acoperite cu ADN. Cea mai elegantă metodă, totuși, folosește o plasmidă numită plasmidă Ti (Ti înseamnă inducerea tumorii), care apare în mod natural în bacteria Agrobacterium tumefaciens (tu'me-fash-enz). Această bacterie infectează anumite plante, în care plasmida Ti determină formarea unei creșteri asemănătoare tumorii numită fiere a coroanei (Figura 9.19). O parte a plasmidei Ti, numită T-ADN, se integrează în genomul plantei infectate. ADN-ul T stimulează creșterea celulară locală (fiera coroană) și provoacă simultan producerea anumitor produse utilizate de bacterii ca sursă de carbon și azot nutrițional.

Pentru oamenii de știință din plante, atracția plasmidei Ti este că oferă un vehicul pentru introducerea ADNr-ului într-o plantă (Figura 9.20). Un om de știință poate introduce gene străine în ADN-T, poate pune plasmida recombinantă înapoi în celula Agrobacterium și poate folosi bacteria pentru a introduce plasmida Ti recombinată într-o celulă vegetală. Celula vegetală cu gena străină poate fi apoi utilizată pentru a genera o nouă plantă. Cu noroc, noua plantă va exprima gena străină. Din păcate, Agrobacterium nu infectează în mod natural ierburile, așa că nu poate fi folosit pentru a îmbunătăți cerealele precum grâul, orezul sau porumbul.

Realizări demne de remarcat ale acestei abordări sunt introducerea în plante a rezistenței la erbicidul glifosat și a unei toxine insecticide (Bt) derivate din Bacillus thuringiensis. În mod normal, erbicidul ucide atât buruienile, cât și plantele utile prin inhibarea unei enzime necesare pentru producerea anumitor aminoacizi esențiali. Bacteriile Salmonella se întâmplă să aibă această enzimă și unele salmonele? au o enzimă mutantă care este rezistentă la erbicid. Când ADN-ul pentru această enzimă este introdus într-o plantă de cultură, cultura devine rezistentă la erbicid, care apoi ucide numai buruienile. Există acum o varietate de plante în care au fost concepute diferite rezistențe la erbicide și pesticide. Rezistența la secetă, infecții virale și alte câteva stresuri de mediu a fost, de asemenea, creată

plasmidă

ADN-T

Recombinant

plasmida Ti

iQ) Celulele vegetale sunt crescute în cultură.

_T) ADN-ul străin este introdus în ADN-ul □ al plasmidului

ADN-ul străin este tăiat de aceeași enzimă.

© Bacteria este folosită pentru a introduce ADN-ul T care poartă gena străină în cromozomul unei celule vegetale.

Bacteria Agrobacterium tumefaciens

Plasmida este îndepărtată din bacterie, iar ADN-ul T este tăiat de o enzimă de restricție.

Figura 9.2C Utilizarea plasmidei Ti ca vector pentru modificarea genetică la plante. w De ce este plasmida Ti importantă pentru biotehnologie?

Plasmida este reintrodusă într-o bacterie.

Locul de clivaj de restricție

ADN-T inserat purtător de genă străină

© O plantă este generată dintr-o celulă cl ,ne. Toate celulele sale poartă gena străină și o pot exprima ca o nouă trăsătură.

Norovirus care este responsabil pentru focar

Pe măsură ce citiți această casetă, veți întâlni o serie de întrebări pe care microbiologii și le pun în timp ce urmăresc un focar de boală. Dacă microbiologul este chemat ca martor expert în instanță, va depinde de depunerea unui proces. Încercați să răspundeți la fiecare întrebare înainte de a trece la următoarea.

Pe 7 mai, Nadia Koehler, microbiolog la un departament de sănătate județean, este anunțată despre un focar de gastroenterită la 115 persoane. Cazul este definit ca vărsături și diaree și febră, crampe sau greață.

De ce informații are nevoie Nadia?

Nadia trebuie să afle unde au fost bolnavii în ultimele 48 de ore. După mai multe interviuri, Nadia află că printre bolnavi se numără 23 de angajați ai școlii,

55 de angajați ai unei companii de editură, 9 angajați ai unei organizații de servicii sociale și alte 28 de persoane (vezi Figura A).

Acum, ce trebuie să știe Nadia?

În continuare, Nadia află ce au în comun acești 115 oameni. În ancheta ei; Nadia descoperă că pe 2 mai, personalul școlii

45 r

40

35

*v> fl) c**

30

0)

25

Inil
de i

o

-� *n*

E

20

15

10

5

ial raportează cazuri comunitare I

fusese servit un sandviș de dimensiunea unei petreceri, servit de un restaurant național în franciză. Pe 3 mai, prânzurile de la editura și personalul serviciilor sociale au fost servite de același restaurant. Restul . 28 de persoane au mâncat sandvișuri la același restaurant, la ore diferite între aceste două zile.

Ce face Nadia în continuare?

Nadia analizează expunerile la 16 produse alimentare; rezultatele arată că consumul de salată verde este asociat în mod semnificativ cu boala.

Care este următorul pas al Nadiei?

Nadia solicită apoi o PCR cu transcripție inversă (RT-PCR) folosind un primer norovirus pentru a fi efectuată pe probe de scaun (Figura B).

Ce a concluzionat Nadia?

RT-PCR a confirmat infecția cu norovirus. Următoarea cerere a Nadiei este ca o analiză a secvenței să fie efectuată pe 21 de specimene de scaun. Rezultatele au demonstrat 100% omologie de secvență pentru cele 21 de specimene. Ce ar trebui să facă Nadia în continuare?

Nadia află că un manipulator de alimente angajat de restaurant a suferit vărsături și diaree la 1 mai. Manipulatorul de alimente crede că s-a îmbolnăvit de la copilul său. Boala copilului a fost cauzată de un văr bolnav care fusese expus la norovirus într-un centru de îngrijire a copiilor. Vărsăturile manipulatorului de alimente s-au încheiat în dimineața devreme a zilei de 2 mai și s-a întors la serviciu la restaurant mai târziu în acea dimineață.

La ce ar trebui să caute Nadia acum?

Acum Nadia compară tulpinile de virus de la manipulatorul de alimente cu cele de la clienții bolnavi. Ea cere o secvență

1 2 3 4 5 6 7 8

Figura B Rezultatele PCR ale probelor de pacient. Banda 1, scări de dimensiune 123-bp. Banda 2, control RT-PCR negativ; Benzile 3-8, mostre de pacienți. Norovirusul este identificat prin banda de 213 bp a ADN-ului.

CHEIE

2 3 4 5 6

Data

Figura A Numărul de cazuri raportate.

Cazuri comunitare raportate

| Grup de servicii sociale

Angajații școlii

B Angajaţii editurii

analiză asupra virușilor de la manipulatorul de alimente și la opt clienți bolnavi. Sunt identice cu tulpinile identificate la pasul 6.

Unde mai arată Nadia?

9. Nadia caută orice zone din restaurant care ar putea fi încă contaminate de norovirus. Ea află că salata verde era tăiată în fiecare dimineață de către manipulatorul de alimente care fusese bolnav. Inspecția Nadiei relevă că chiuveta pentru prepararea alimentelor este folosită și pentru spălarea mâinilor. Chiuveta nu a fost igienizată înainte și după spălarea salatei. Departamentul de sănătate închide restaurantul până când acesta poate fi curățat cu dezinfectante adecvate.

Norovirusurile sunt cea mai frecventă cauză a focarelor de gastroenterită acută la nivel mondial. În toamna anului 2008, trei focare de norovirus au avut loc în campusurile universitare, ducând la un total de aproximativ 1000 de cazuri de boală raportate, inclusiv cel puțin 10 spitalizări, și au determinat închiderea unuia dintre cele trei campusuri.

Sursa: Adaptare din MMWR 55(14): 395-397, 14 aprilie 2006; 58(39): 1095-1100, 9 octombrie 2009.

în plantele de cultură. Bacteriile Bacillus thuringiensis sunt patogene pentru unele insecte deoarece produc o proteină numită toxină Bt care interferează cu tractul digestiv al insectelor. Gena Bt a fost inserată într-o varietate de plante de cultură, inclusiv bumbac și cartofi, astfel încât insectele care mănâncă plantele vor fi ucise.

Un alt exemplu implică roșiile MacGregor, care rămân ferme după recoltare, deoarece gena pentru poligalacturonaza (PG), enzima care descompune pectina, este suprimată. Suprimarea a fost realizată prin tehnologia ADN antisens. În primul rând, este sintetizată o lungime de ADN complementară ARNm PG. Acest ADN antisens este preluat de celulă și se leagă de ARNm pentru a inhiba translația. Hibridul ADN-ARN este descompus de enzimele celulei, eliberând ADN-ul antisens pentru a dezactiva un alt ARNm.

Poate cea mai interesantă utilizare potențială a plantelor modificate genetic se referă la fixarea azotului, capacitatea de a converti gazul de azot din aer în compuși pe care celulele vii îi pot folosi (vezi pagina 777). Disponibilitatea unor astfel de nutrienți care conțin azot este de obicei principalul factor care limitează creșterea culturilor. Dar în natură, doar anumite bacterii au gene pentru realizarea acestui proces. Unele plante, precum lucerna, beneficiază de o relație simbiotică cu acești microbi. Speciile bacteriei simbiotice Rhizobium au fost deja modificate genetic pentru o fixare îmbunătățită a azotului. În viitor, tulpinile de Rhizobium pot fi concepute care pot coloniza astfel de plante de cultură precum porumbul și grâul, eliminând probabil necesarul de îngrășământ cu azot. Scopul final ar fi introducerea genelor funcționale de fixare a azotului direct în plante. Deși acest obiectiv nu poate fi atins cu cunoștințele noastre actuale, munca în acest sens va continua datorită potențialului său de a crește dramatic aprovizionarea cu alimente la nivel mondial.

Un exemplu de bacterie modificată genetic acum utilizat în agricultură este fluorescentul Pseudomonas care a fost conceput pentru a produce toxina Bt, produsă în mod normal de Bacillus thuringiensis. Această toxină ucide anumite insecte, cum ar fi foricul european al porumbului. Pseudomonas modificat genetic, care produce mult mai multă toxină decât B. thuringiensis, poate fi adăugat la semințele plantelor și, în timp, va intra în sistemul vascular al plantei în creștere. Toxina sa este ingerată de larvele de hrană ale borerului și le ucide (dar este inofensivă pentru oameni și alte animale cu sânge cald).

Creșterea animalelor a beneficiat și de tehnologia ADNr. Am văzut cum unul dintre primele produse comerciale ale ADNr a fost hormonul de creștere uman. Prin metode similare este posibilă fabricarea hormonului de creștere bovin (bGH). Când bGH este injectată la bovine

de carne, crește creșterea în greutate a acestora; la vacile de lapte determină și o creștere cu 10% a producției de lapte. Astfel de proceduri au întâmpinat rezistență din partea consumatorilor, în special în Europa, în primul rând ca urmare a temerilor încă nefondate că o parte din bGH ar fi prezentă în laptele sau carnea acestor bovine și ar putea fi dăunătoare pentru oameni.

Tabelul 9.3 enumeră acestea și alte câteva produse ADNr utilizate în agricultură și creșterea animalelor.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

/X Ce valoare are agentul patogen al plantelor Agrobacterium? 9-19

Probleme de siguranță și etica utilizării tehnologiei ADN

OBIECTIVUL ÎNVĂȚĂRII

9-20 Enumerați avantajele și problemele asociate cu utilizarea tehnicilor de modificare genetică.

Întotdeauna va exista îngrijorare cu privire la siguranța oricărei noi tehnologii, iar modificarea genetică și biotehnologia nu fac, cu siguranță, excepții. Un motiv pentru această îngrijorare este că este aproape imposibil să se dovedească că ceva este complet sigur în toate condițiile imaginabile. Oamenii se îngrijorează că aceleași tehnici care pot modifica un microb sau o plantă pentru a le face utile oamenilor le-ar putea face, din neatenție, patogene pentru oameni sau periculoase în alt mod pentru organismele vii sau ar putea crea un coșmar ecologic. Prin urmare, laboratoarele implicate în cercetarea ADNr trebuie să îndeplinească standarde riguroase de control pentru a evita fie eliberarea accidentală a organismelor modificate genetic în mediu, fie expunerea oamenilor la orice risc de infecție. Pentru a reduce riscul și mai mult, microbiologii implicați în modificarea genetică șterg adesea din genomul microbilor anumite gene care sunt esențiale pentru creșterea în medii din afara laboratorului. Organismele modificate genetic destinate utilizării în mediul înconjurător (în agricultură, de exemplu) pot fi proiectate pentru a conține „gene de sinucidere — gene care în cele din urmă se activează pentru a produce o toxină care ucide microbii, asigurându-se astfel că nu vor supraviețui în mediu mult timp după ce și-au îndeplinit sarcina.

. Problemele de siguranță în biotehnologia agricolă sunt similare cu cele referitoare la pesticidele chimice: toxicitate pentru oameni și specii non-dăunătoare. Deși nu s-au dovedit a fi dăunătoare, alimentele modificate genetic nu au fost populare în rândul consumatorilor, n r. ': cercetătorii din Ohio au observat că oamenii pot dezvolta alergii la toxina Bacillus thuringiensis (Bt) după ce au lucrat pe câmpurile pulverizate cu insecticid. Iar un studiu din Iowa a arătat că stadiul de omidă al fluturilor monarh ar putea fi ucis prin ingerarea polenului purtător de Bt, care a aterizat. laptele, hrana normală a omizilor. Plantele de cultură pot fi modificate genetic pentru rezistența la erbicide, astfel încât câmpurile să poată fi pulverizate pentru a elimina buruienile fără a ucide cultura dorită. Cu toate acestea, dacă

plantele modificate polenizează specii de buruieni înrudite, buruienile ar putea deveni rezistente la erbicide, făcându-le mai mult

plantele nedorite sunt greu de controlat. O întrebare fără răspuns este dacă eliberarea organismelor modificate genetic va modifica evoluția pe măsură ce genele se deplasează la speciile sălbatice.

Aceste tehnologii în curs de dezvoltare ridică, de asemenea, o varietate de probleme etice. Testarea genetică pentru boli devine o rutină. Cine ar trebui să aibă acces la aceste informații? Angajatorii ar trebui să aibă dreptul să cunoască rezultatele unor astfel de teste? Cum putem fi siguri că astfel de informații nu vor fi folosite pentru a discrimina anumite grupuri? Ar trebui să li se spună indivizilor că vor avea o boală incurabilă? Dacă da, când?

Consilierea genetică, care oferă sfaturi și consiliere viitorilor părinți cu antecedente familiale de boli genetice, devine din ce în ce mai importantă în considerarea dacă să aibă copii.

Probabil că există la fel de multe aplicații dăunătoare ale unei noi tehnologii, câte sunt utile. Este deosebit de ușor de imaginat că tehnologia ADN este folosită pentru a dezvolta arme biologice noi și puternice. În plus, deoarece astfel de eforturi de cercetare sunt efectuate în condiții extrem de secrete, este practic imposibil ca publicul larg să afle despre ele.

Poate mai mult decât majoritatea noilor tehnologii, genetica moleculară deține promisiunea de a afecta viața umană în moduri până acum de neimaginat. Este important ca societatea și indivizii să aibă toate oportunitățile de a înțelege impactul potențial al acestor noi evoluții.

La fel ca invenția microscopului, dezvoltarea tehnicilor ADN provoacă schimbări profunde în știință, agricultură și îngrijirea sănătății umane. Cu această tehnologie veche de doar puțin mai mult de 30 de ani, este dificil de prezis exact ce schimbări vor avea loc. Cu toate acestea, este probabil ca în alți 30 de ani, multe dintre tratamentele și metodele de diagnostic discutate în această carte să fi fost înlocuite cu tehnici mult mai puternice bazate pe capacitatea fără precedent de a manipula ADN-ul cu precizie.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

P** Identificați două avantaje și două probleme asociate cu organismele modificate genetic. 9-20

Schița de studiu

Stăpânirea MICROBIGLOLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare microbiană și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com

Introducere în biotehnologie (p. 245-247)

Biotehnologia este utilizarea de microorganisme, celule sau componente celulare pentru a face un produs.

Tehnologia ADN recombinant (pag. 245)

Organismele strâns înrudite pot schimba gene prin recombinare naturală.

Genele pot fi transferate între specii neînrudite prin manipulare de laborator, numită tehnologie ADN recombinant.

ADN-ul recombinant este ADN-ul care a fost manipulat artificial pentru a combina gene din două surse diferite.

O privire de ansamblu asupra ADN-ului recombinant

Proceduri (p. 245-247)

O genă dorită este inserată într-un vector ADN, cum ar fi o plasmidă sau un genom viral.

Vectorul introduce ADN-ul într-o nouă celulă, care este crescută pentru a forma o clonă.

Cantități mari de produs genetic pot fi recoltate din clonă.

Instrumente de biotehnologie (p. 247-251)

Selectare (pag. 247)

Microbii cu trăsături dezirabile sunt selectați pentru cultivare prin selecție artificială.

Mutație (pag. 247)

Mutagenii sunt utilizați pentru a provoca mutații care ar putea avea ca rezultat un microb cu trăsături dezirabile.

Mutageneza direcționată pe site este utilizată pentru a schimba un codon specific dintr-o genă.

Enzime de restricție (pag. 247 -248)

Sunt disponibile truse preambalate pentru tehnicile ADNr.

O enzimă de restricție recunoaște și taie doar o anumită secvență de nucleotide din ADN.

Unele enzime de restricție produc capete lipicioase, porțiuni scurte de ADN monocatenar la capetele fragmentelor de ADN.

Fragmente de ADN produse de aceeași enzimă de restricție se vor uni spontan prin împerecherea bazelor. ADN-ligaza poate lega covalent vertebratele ADN.

Vectori (pag. 248-249)

Vectorii navetă sunt plasmide care pot exista în mai multe specii diferite.

O plasmidă care conține o nouă genă poate fi inserată într-o celulă prin transformare.

Un virus care conține o nouă genă poate introduce gena într-o celulă.

Reacția în lanț a polimerazei (pag. 249-251)

Reacția în lanț a polimerazei (PCR) este utilizată pentru a face mai multe copii ale unei părți dorite de ADN pe cale enzimatică.

PCR poate fi utilizată pentru a crește cantitățile de ADN din probe până la niveluri detectabile. Acest lucru poate permite secvențierea genelor, diagnosticarea bolilor genetice sau detectarea virusurilor.

Tehnici de genetică

Modificare (p. 251-257)

Inserarea ADN-ului străin în celule (pag. 251-252)

Celulele pot prelua ADN-ul gol prin transformare. Tratamentele chimice sunt folosite pentru a face celulele care nu sunt competente în mod natural să preia ADN.

Porii formați în protoplaste și celule animale prin curent electric în procesul de electroporare pot oferi intrarea pentru noi bucăți de ADN.

Fuziunea protoplastelor este unirea celulelor ai căror pereți celulari au fost îndepărtați.

ADN-ul străin poate fi introdus în celulele plantelor prin împușcarea particulelor acoperite cu ADN în celule.

ADN-ul străin poate fi injectat în celulele animale folosind o micropipetă din sticlă fină.

Obținerea ADN (p. 252-254)

Bibliotecile genomice pot fi realizate prin tăierea unui întreg genom cu enzime de restricție și inserarea fragmentelor în plasmide bacteriene sau fagi.

ADN-ul complementar (ADNc) obținut din ARNm prin transcripție inversă poate fi donat în biblioteci genomice.

ADN-ul sintetic poate fi produs in vitro printr-o mașină de sinteză a ADN-ului.

Selectarea unei clone (pag. 255)

Markerii de rezistență la antibiotice pe vectorii plasmidii sunt utilizați pentru a identifica celulele care conțin vectorul modificat prin selecție directă.

În screening-ul albastru-alb, vectorul conține genele pentru ampR și (3-galactozidază.

Gena dorită este inserată în situsul genei ^-galactozidazei, distrugând gena.

Clonele care conţin vectorul recombinant vor fi rezistente la ampicilină şi nu vor putea hidroliza X-gal (colonii albe). Clonele care conțin vectorul fără noua genă vor fi albastre. Clonele care nu au vectorul nu vor creşte.

< .tonele care conţin ADN străin pot fi testate pentru produsul genetic dorit.

.4. O bucată scurtă de ADN marcat numită sondă ADN poate fi utilizată pentru a identifica clonele care poartă gena dorită.

Realizarea unui produs genetic (pag. 255-257)

E. coli este folosită pentru a produce proteine folosind ADNr deoarece E. coli este ușor de crescut și genomica sa este bine înțeleasă.

Trebuie depuse eforturi pentru a se asigura că endotoxina E. coli nu contaminează un produs destinat uzului uman.

Pentru a recupera produsul, E. coli trebuie să fie lizată sau gena trebuie legată la o genă care produce o proteină secretată în mod natural.

Drojdiile pot fi modificate genetic și sunt susceptibile să secrete o genă

produs continuu. ' &

Celulele de mamifere modificate genetic pot fi cultivate pentru a produce proteine, cum ar fi hormoni pentru uz medical.

Celulele vegetale modificate genetic pot fi cultivate și utilizate pentru a produce plante cu proprietăți noi.

Aplicații ale tehnologiei ADN (pp. 257-266)

■. ADN-ul izolat este folosit pentru a produce produse, pentru a studia ADN-ul clonat și pentru a modifica fenotipul unui organism.

Aplicații terapeutice (p. 257-260)

Genele sintetice legate de gena p-galactozidazei (JacZ) într-un vector plasmidic au fost inserate în E. coli, permițând E. coli

pentru a produce și a secreta cele două polipeptide folosite la producerea insulinei umane.

(. Ells și virusurile pot fi modificate pentru a produce o proteină de suprafață a unui agent patogen, care poate fi utilizată ca vaccin.

Vaccinurile ADN constau din ADNr donat în bacterii.

Terapia genică poate fi folosită pentru a vindeca boli genetice prin înlocuirea genei defecte sau lipsă.

ARNi poate fi util pentru a preveni exprimarea proteinelor anormale.

Proiecte genom (pag. 260)

Secvențele de nucleotide ale genomului a peste 1000 de organisme, inclusiv oameni, au fost finalizate.

„Acest lucru duce la determinarea proteinelor produse într-o celulă.

Aplicații științifice (pag. 260-263)

ADN-ul poate fi folosit pentru a crește înțelegerea ADN-ului, pentru amprentarea genetică și pentru terapia genică.

Mașinile de secvențiere ADN sunt utilizate pentru a determina secvența de bază de nucleotide a fragmentelor de restricție în secvențierea cu pușcă.

Bioinformatica este utilizarea aplicațiilor computerizate pentru studiul datelor genetice; proteomica este studiul proteinelor unei celule.

Southern blotting poate fi utilizat pentru a localiza o genă într-o celulă.

Sondele ADN pot fi utilizate pentru a identifica rapid un agent patogen în țesutul bodv sau în alimente.

Microbiologii criminaliști folosesc amprenta ADN pentru a identifica sursa agenților patogeni bacterieni sau virali.

Bacteriile pot fi folosite pentru a face materiale de dimensiuni nanometrice pentru mașinile de nanotehnologie.

Aplicații agricole (p. 263-266)

Celulele de la plante cu caracteristici de dorit pot fi donate pentru a produce multe celule identice. Aceste celule pot fi apoi folosite pentru a produce plante întregi din care pot fi recoltate semințele.

1.. Celulele vegetale pot fi modificate prin utilizarea vectorului plasmidic Ti.

Genele T producătoare de tumori sunt înlocuite cu genele dorite, iar ADN-ul recombinant este inserat în Agrobacterium.

Bacteria își transformă în mod natural gazdele plantelor.

ADN-ul antisens poate preveni exprimarea proteinelor nedorite.

Probleme de siguranță și etica utilizării

Tehnologia ADN (pag. 266-267)

Sunt utilizate standarde stricte de siguranță pentru a evita eliberarea accidentală a microorganismelor modificate genetic.

Unii microbi utilizați în clonarea ADNr-ului au fost modificați astfel încât să nu poată supraviețui în afara laboratorului.

Microorganismele destinate utilizării în mediu pot fi modificate pentru a conține gene suicidare, astfel încât organismele să nu persistă în mediu.

Testarea genetică ridică o serie de întrebări etice: ar trebui angajatorii și companiile de asigurări să aibă acces la înregistrările genetice ale unei persoane? Vor fi unii oameni vizați fie pentru reproducere, fie pentru sterilizare? Consilierea genetică va fi disponibilă tuturor?

Culturile modificate genetic trebuie să fie sigure pentru consum și pentru eliberarea în mediu.

Întrebări de studiu

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Comparați și comparați următorii termeni:

cADN și genă

fragment de restricție și genă

Sondă ADN și genă

ADN polimeraza și ADN ligaza

ADNr și ADNc

genomului și proteomului

Diferențiază următorii termeni. Care dintre ele este „lovită și ratată” – adică nu adaugă o anumită genă unei celule?

fuziunea protoplastului c. microinjectie

pistol cu gene d. electroporație

Unele enzime de restricție utilizate în mod obișnuit sunt enumerate în Tabelul 9.1 de la pagina 248.

Indicați ce enzime produc capete lipicioase.

Ce valoare au capetele lipicioase pentru a produce ADN recombinant?

Să presupunem că doriți mai multe copii ale unei gene pe care ați sintetizat-o. Cum ați obține copiile necesare prin clonare? Prin PCR?

Folosind următoarea hartă a plasmidei pMICRO,

de la digerarea pMICRO cu EcoRI, HmdIII și ambele enzime împreună în urma electroforezei. Care enzimă

Descrieți un experiment ADN recombinant în două sau trei propoziții. Utilizați următorii termeni: intron, exon, ADN, ARNm, ADNc, ARN polimerază, transcriptază inversă.

Enumerați cel puțin două exemple de utilizare a ADNr-ului în medicină și în agricultură.

Încercați să introduceți o genă pentru toleranța la apă sărată într-o plantă folosind plasmida Ti. Pe lângă gena dorită, adăugați o genă pentru rezistența la tetraciclină (tet^ la plasmidă. Care este scopul genei tet^?

Cum „tăcere” RNAi o genă?

, Această familie de virusuri, asociată în mod normal cu SIDA,

poate fi util pentru terapia genică.

Alegere Multiplă

Enzimele de restricție au fost descoperite pentru prima dată cu observația că

ADN-ul este limitat la nucleu.

ADN-ul fagului este distrus într-o celulă gazdă.

ADN-ul străin este păstrat în afara unei celule.

ADN-ul străin este limitat la citoplasmă.

toate cele de mai sus

Sonda ADN, 3'-GGCTTA, se va hibridiza cu care dintre următoarele?

5'-CCGUUA

5'-CCGAAT

5'-GGCTTA

3'-CCGAAT

3' -GGCAAU

Care dintre următoarele este al patrulea pas de bază pentru a modifica genetic o celulă?

transformare

ligaturare

clivaj plasmid

digestia genei cu enzime de restricție

izolarea genei

Următoarele enzime sunt folosite pentru a produce ADNc. Care este a doua enzimă folosită pentru a produce ADNc?

revers transcriptaza   c. ARN polimeraza

ribozimă   d. ADN polimeraza

Dacă puneți o genă într-un virus, următorul pas în modificarea genetică ar fi

inserarea unei plasmide. d. PCR.

transformare.   e. Southern blot.

transducție.

Aveți o genă mică pe care doriți să o replicați prin PCR. Adăugați nucleotide marcate radioactiv la termociclorul PCR. După trei cicluri de replicare, ce procent din catenele simple ADN sunt marcate radioactiv?

0%   d. 87,5%

12,5% e. 100%

50%

Asociați următoarele opțiuni cu enunțurile de la întrebările de la 7 la 10.

antisens d. Southern blot

clona e. vector

bibliotecă

Bucăți de ADN uman stocate în celulele de drojdie.

O populație de celule care poartă o plasmidă dorită.

ADN cu auto-replicare pentru transmiterea unei gene de la un organism la altul.

O genă care hibridizează cu ARNm.

Gândire critică

Proiectați un experiment folosind virusul vaccinia pentru a face un vaccin împotriva virusului SIDA (HIV).

De ce utilizarea ADN polimerazei de la bacteria lhermus aquaticus a permis cercetătorilor să adauge reactivii necesari în tuburi într-un bloc de încălzire preprogramat? \

Imaginea de mai jos arată colonii bacteriene în creștere pe X-gal plus ampicilină într-un test de screening alb-albastru. Ce colonii au plasmidă recombinată ih.e? Micile colonii satelit nu au plasmida. De ce au început să crească pe mediu la 48 de ore după coloniile mai mari?

Aplicații clinice

PCR a fost folosit pentru a examina stridiile pentru prezența

 io «.holerae. S-au omogenizat stridiile din diferite zone,

iar ADN-ul a fost extras din omogenate. ADN-ul a fost digerat de enzima de restricție Hindi. Un primer pentru gena hemolizină a V. cholerae a fost utilizat pentru reacția PCR. După PCR, fiecare probă a fost electroforizată și colorată cu o sondă pentru gena hemolizină. Care dintre probele de stridii au fost (au fost) pozitive pentru V. cholerae? Cum poți să spui? De ce să cauți V. cholerae în stridii? Care este avantajul PCR față de testele biochimice convenționale pentru a identifica bacteriile?

ABC

Folosind enzima de restricție £coRI, următoarele modele de electroforeză pe gel au fost obținute din digerări ale diferitelor molecule de ADN dintr-un experiment de transformare. Puteți trage concluzia din aceste date că a avut loc transformarea? Explicați de ce sau „de ce nu”.

Clasificarea

Microorganisme

T

a științei clasificării, în special a clasificării formelor vii, se numește taxonomie (din greacă pentru aranjare ordonată). Obiectivul taxonomiei este de a clasifica organismele vii, adică de a stabili relațiile dintre un grup de organisme și altul și de a le diferenția. Pot exista până la 100 de milioane de organisme vii diferite, dar mai puțin de 10% au fost descoperite, mult mai puțin clasificate și identificate.

Taxonomia oferă, de asemenea, o referință comună pentru identificarea organismelor deja clasificate. De exemplu, atunci când o bacterie suspectată că provoacă o anumită boală este izolată de la un pacient, caracteristicile acelui izolat sunt corelate cu listele de caracteristici ale bacteriilor clasificate anterior pentru a identifica izolatul (vezi caseta de la pagina 282). În cele din urmă, taxonomia este un instrument de bază și necesar pentru oamenii de știință, oferind un limbaj universal de comunicare.

Taxonomia modernă este un domeniu interesant și dinamic. Capacitatea de a secvenționa rapid ADN-ul, chiar și de a incendia genomurile, a condus la noi perspective asupra clasificării și evoluției. În acest capitol, veți învăța diferitele sisteme de clasificare, diferitele criterii utilizate pentru clasificare și testele care sunt utilizate pentru a identifica microorganismele care au fost deja clasificate. Contribuția taxonomiei care aduce o nouă lumină asupra organismelor descoperite anterior, cum ar fi Pneumocystis jirovecii prezentate în fotografie, va fi discutată în acest capitol.

Studiul relațiilor filogenetice

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

10-1 Definiți taxonomia, taxonul și filogenia.

10-2 Discutați limitele unui sistem de clasificare cu două regate.

10-3 Identificați contribuțiile lui Linnaeus, von Năgeli, Chatton, Whittaker și Woese.

10-4 Discutați avantajele sistemului cu trei domenii.

10-5 Enumerați caracteristicile domeniilor Bacteria, Archaea și Eukarya.

În 2001, a fost lansat un proiect internațional numit Inventarul tuturor speciilor. Scopul proiectului este de a identifica și înregistra fiecare specie de viață de pe Pământ în următorii 25 de ani. Acești cercetători și-au asumat un obiectiv provocator: în timp ce biologii au identificat până acum peste 1,7 milioane de organisme diferite, se estimează că numărul speciilor vii variază de la 10 la 100 de milioane.

Printre aceste multe și diverse organisme, totuși, există multe asemănări. De exemplu, toate organismele sunt compuse din celule înconjurate de o membrană plasmatică, folosesc ATP pentru energie și își stochează informațiile genetice în ADN. Aceste asemănări sunt rezultatul evoluției sau descendenței dintr-un strămoș comun. În 1859, naturalistul englez Charles Darwin a propus că selecția naturală este responsabilă pentru asemănările, precum și pentru diferențele dintre organisme. Diferențele pot fi atribuite supraviețuirii organismelor cu trăsături cele mai potrivite unui anumit mediu.

Pentru a facilita cercetarea, studiile și comunicarea, folosim taxonomia, adică plasăm organismele în categorii sau taxoni (singular: taxon), pentru a arăta grade de asemănări între organisme. Aceste asemănări se datorează înrudirii — toate organismele sunt legate prin evoluție. Sistematica, sau filogenia, este studiul istoriei evolutive a organismelor. Ierarhia taxonilor reflectă relații evolutive sau filogenetice.

Din vremea lui Aristotel, organismele vii au fost clasificate în doar două moduri, fie ca plante sau animale. În 1735, botanistul suedez Carolus Linnaeus a introdus un sistem formal de clasificare care împarte organismele vii în două regate - Plantae și Animalia. El a folosit nume latinizate pentru a oferi un „limbaj" comun pentru sistematică. Pe măsură ce științele biologice s-au dezvoltat, totuși, biologii au început să caute un sistem natural de clasificare - unul care grupează organismele pe baza relațiilor ancestrale și ne permite să vedem ordinea în viață. În 1857, Carl von Nägeli, un contemporan al lui Pasteur, a propus ca bacteriile și ciupercile să fie plasate în regnul vegetal. În 1866, Ernst Haeckel a propus Regatul Protista, care să includă bacterii, protozoare, alge și ciuperci. Din cauza dezacordurilor cu privire la definiția protiștilor, în următorii 100 de ani biologii au continuat să urmărească plasarea bacteriilor și ciupercilor de către von Nägeli în regnul vegetal. Este ironic faptul că secvențierea recentă a ADN-ului plasează ciupercile mai aproape de animale decât de plante. Ciupercile au fost plasate în propriul lor regat în 1959.

Odată cu apariția microscopiei electronice, diferențele fizice dintre celule au devenit evidente. Termenul de procariotă a fost introdus în 1937 de Edouard Chatton pentru a distinge celulele fără nucleu de celulele nucleate ale plantelor și animalelor. În 1961, Roger Stanier a oferit definiția actuală a procariotelor: celule în care materialul nuclear (nucleoplasma) nu este înconjurat de o membrană nucleară. În 1968, Robert GE Murray a propus Regatul Prokaryotae.

În 1969, Robert H. Whittaker a fondat sistemul cu cinci regate în care procariotele erau plasate în Regatul Prokaryotae, sau Monera, iar eucariotele cuprindeau celelalte patru regate. Regatul Prokaryotae se bazase pe observații microscopice. Ulterior, noi tehnici în biologia moleculară au arătat că există de fapt două tipuri de celule procariote și un tip de celulă eucariotă.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Este Ce valoare are taxonomia și sistematica? 10-1*

De ce nu ar trebui plasate bacteriile în regnul vegetal? 10-2,10-3

Cele Trei Domenii

Descoperirea a trei tipuri de celule sa bazat pe observațiile conform cărora ribozomii nu sunt aceiași în toate celulele (vezi capitolul 4, pagina 94). Ribozomii oferă o metodă de comparare a celulelor, deoarece ribozomii sunt prezenți în toate celulele. Compararea secvențelor de nucleotide din ARN-ul ribozomal (vezi pagina 292) din diferite tipuri de celule arată că există trei grupuri de celule distinct diferite: eucariote și două tipuri diferite de procariote - bacteriile și arheile.

Caz clinic: Focar cu aromă completă

Monica Jackson, o asistentă de producție în vârstă de 32 de ani la un post de televiziune din Reno, Nevada, și-a făcut o întâlnire cu asistenta de la cabinetul medicului ei. Monica îi spune asistentei că are diaree, greață și crampe abdominale de aproape 12 ore. De asemenea, se simte obosită și are o febră scăzută. Monica s-a simțit bine într-un minut, iar în următorul a fost violent bolnavă. Monica o informează pe asistenta că ea și bunul ei prieten, care este și el bolnav, fuseseră la același prânz cu o zi înainte. Asistenta ia o probă de scaun și o trimite la laboratorul spitalului pentru analiză.

Ce va face laboratorul mai întâi pentru a căuta un agent patogen bacterian? Citiți mai departe pentru a afla.

273 6 287 2

În 1978, Carl R. Woese a propus ridicarea celor trei tipuri de celule la un nivel deasupra regnului, numit domeniu. Woese credea că arheile și bacteriile, deși similare ca aspect, ar trebui să-și formeze propriile domenii separate pe arborele evolutiv (Figura 10.1). Organismele sunt clasificate după tipul de celule în cele trei sisteme de domenii. Pe lângă diferențele de ARNr, cele trei domenii diferă în structura lipidelor membranei, moleculele de ARN de transfer și sensibilitatea la antibiotice (Tabelul 10.1).

În această schemă larg acceptată, animalele, plantele și ciupercile sunt regate în Domeniul Eukarya. Domeniul Bacteriile include toate procariotele patogene, precum și multe dintre procariotele nepatogene găsite în sol și apă. Procariotele fotoautoirofice sunt, de asemenea, în acest domeniu. Domeniul Archaea include procariote care nu au peptidoglican în pereții

lor celulari. Ei trăiesc adesea în medii extreme și efectuează procese metabolice neobișnuite. Archaea include trei grupuri majore:

Metanogene, anaerobi stricti care produc metan (CH_4) din dioxid de carbon și hidrogen.

Halofile extreme, care necesită concentrații mari de sare pentru supraviețuire.

Hipertermofile, care cresc în mod normal în medii extrem de calde.

Câte membrane alcătuiesc învelișul nuclear al unei celule eucariote?

Relația evolutivă a celor trei domenii este subiectul cercetărilor curente ale biologilor. Pe baza analizei ARNr, trei linii celulare au apărut în mod clar pe măsură ce celulele se formau acum 3,5 miliarde de ani. Aceasta a dus la Archaea, Bacteriile și ceea ce în cele din urmă a devenit nucleoplasma eucariotelor. Cu toate acestea, cele trei linii celulare nu au fost izolate; transferul orizontal al genelor (pagina 232) pare să fi avut loc printre ei. Analiza genomurilor complete arată că fiecare domeniu împarte gene cu alte domenii. Un sfert din genele bacteriei Thermotoga au fost, probabil, dobândite de la un arheon. Transferul de gene a fost observat și între gazde eucariote de la simbioții lor procarioți (vezi caseta de la pagina 308).

„Cele mai vechi fosile cunoscute sunt rămășițele procariotelor care au trăit cu peste 3,5 miliarde de ani în urmă. Celulele eucariote au evoluat mai recent, acum aproximativ 2,5 miliarde de ani. Conform teoriei endosimbiotice, celulele eucariote au evoluat din celule procariote care trăiesc una în interiorul celuilalt, ca endosimbioți (vezi capitolul 4, pagina 106). De fapt, asemănările dintre celulele procariote și organitele eucariote oferă dovezi izbitoare pentru această relație endosimbiotică (Tabelul 10.2).

Figura * 0J Cyanophora paradoxa. Acest organism, în care gazda eucariotă și bacteria au nevoie una de cealaltă pentru supraviețuire, oferă un exemplu modern al modului în care celulele eucariote ar fi putut evolua.

Ce caracteristici au cloroplastele, mitocondriile și bacteriile în comun?

Celula nucleoplasmatică originală era procariotă. Cu toate acestea, în pliuri ale membranei sale plasmatice poate să fi înconjurat regiunea nucleară pentru a produce un nucleu adevărat (Figura 10.2). Recent, cercetătorii francezi au susținut această ipoteză prin observațiile lor asupra unui nucleu adevărat în bacteriile Gemmata (vezi figura 11.23). De-a lungul timpului, cromozomul nucleoplasmei poate să fi dobândit piese precum transpozonii (pagina 237). În unele celule, acest cromozom mare s-ar putea să se fi fragmentat în cromozomi liniari mai mici. Poate că celulele cu cromozomi liniari au avut un avantaj în diviziunea celulară față de cele cu un cromozom circular mare și greu de manevrat.

Celula nucleoplasmatică a furnizat gazda originală în care bacteriile endosimbiotice s-au dezvoltat în organele (vezi pagina 106). Un exemplu de procariotă modernă care trăiește într-o celulă eucariotă este prezentat în Figura 10.3. Celula asemănătoare cianobacteriei și gazda eucariotă au nevoie reciprocă pentru supraviețuire.

Taxonomia oferă instrumente pentru clarificarea evoluției organismelor, precum și a interrelațiilor lor. Noi organisme sunt descoperite în fiecare zi, iar taxonomiștii continuă să caute un sistem natural de clasificare care să reflecte relațiile filogenetice.

O ierarhie filogenetică

Într-o ierarhie filogenetică, gruparea organismelor în funcție de proprietăți comune implică faptul că un grup de organisme a evoluat dintr-un strămoș comun; fiecare specie păstrează unele dintre caracteristicile strămoșului. Unele dintre informațiile utilizate pentru clasificarea și determinarea relațiilor filogenetice sunt mai mari

TABELUL 0»*1 Câteva caracteristici ale Archaea/Bacterii și Eukarya

Bacteriile

Eukarya

Archaea

Amibă

„Se leagă de proteina ribozomală; găsit în toate bacteriile.

O secvență de baze în ARNt găsită în toate eucariotele și bacteriile: guanină-timină-pseudouridină-citozină-guanină.

eucariote

Variază în compoziție; conţine carbohidraţi

Compus din lanțuri de carbon drepte atașate la glicero' prin legătură esterică

Metionină

Nu

Lipsit

Prezent

Celula eucariotă

Organele eucariote (mitocondrii și cloroplaste)

TABELUL 10.2 Comparație între celule procariote și organele eucariote

Celula procariotă

Circular

Nu

Formilmetionină

70S

Fisiune binară

organismele provin din fosile. Oasele, cochiliile sau tulpinile care conțin materie minerală sau au lăsat amprente în roca care a fost cândva noroi sunt exemple de fosile.

Structurile majorității microorganismelor nu sunt reamintit fosilizate. Unele excepții sunt următoarele:

Un protist marin ale cărui colonii fosilizate formează White Cliffs din Dover, Anglia.

Stromatoliți, rămășițele fosilizate de bacterii filamentoase și sedimente care au înflorit între 0,5 și 2 miliarde de ani în urmă (Figura 10.4a și Figura 10.4b).

Fosile asemănătoare cianobacteriilor găsite în roci din vestul Australiei, care au între 3,0 și 3,5 miliarde de ani. Acestea sunt considerate a fi cele mai vechi fosile cunoscute (Figura 10.4c).

Deoarece dovezile fosile nu sunt disponibile pentru majoritatea procariotelor, filogenia lor trebuie să se bazeze pe alte dovezi. Dar, într-o excepție notabilă, oamenii de știință pot avea bacterii și drojdii vii izolate cu o vechime de 25 până la 40 de milioane de ani. În 1995, microbiologul american Raul Cano și colegii săi au raportat creșterea Bacillus sphaericus și a altor microorganisme încă neidentificate care supraviețuiseră încorporate în chihlimbar (rășină de plante fosilizate) de milioane de ani. Dacă va fi confirmată, această descoperire ar trebui să ofere mai multe informații despre evoluția microorganismelor.

Asemănările în genom pot fi folosite pentru a grupa organismele în taxoni și pentru a oferi o cronologie pentru apariția taxonomiilor. Acest lucru este deosebit de important pentru microorganismele care de obicei nu lasă dovezi fosile. Acest concept de ceas molecular bazat pe diferențele de aminoacizi din hemoglobină între diferite animale a fost propus pentru prima dată în anii 1960. Un ceas molecular pentru evoluție se bazează pe secvențe de nucleotide din genomul organismelor. Mutațiile se acumulează într-un genom cu o rată constantă. În unele gene, cum ar fi genele ARNr, există puține mutații, acestea fiind gene foarte conservate. Alte regiuni ale unui genom se modifică fără efect aparent asupra organismului. Compararea numărului de mutații între două organisme cu rata de schimbare așteptată oferă o estimare a momentului în care cele două s-au îndepărtat de un strămoș comun. Această tehnică a fost folosită pentru a urmări calea virusului West Nile către Statele Unite. (Vezi caseta de la pagina 220)

Concluziile din studiile de secvențiere a ARNr și hibridizare ADN (discutate la pagina 290) ale ordinelor și tamiliilor selectate de eucariote sunt în acord cu înregistrările fosile. Acest lucru a încurajat lucrătorii să folosească hibridizarea ADN și secvențierea ARNr pentru a înțelege relațiile evolutive dintre grupurile procariote.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce dovezi susțin clasificarea organismelor în trei domenii? 10-4

Comparați arheile și bacteriile; bacterii și eucariote; și arheea și eukarya. 10-5

(a) Comunitățile bacteriene formează stâlpi asemănătoare stâncii numiți |
1

stromatolite. Acestea au început să crească acum aproximativ 3000 de ani. 30 cm

(b) Tăiați secțiune printr-un stomatolit fosilizat care a înflorit I 1

acum 2 miliarde de ani. 2 cm

Ce dovezi sunt folosite pentru a determina filogenia procariotelor?

Clasificarea Organismelor

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

10-6 Explicați de ce sunt folosite denumirile științifice.

10-7 Enumerați taxonii majori.

10-8 Diferențierea culturii, clonelor și tulpinii.

10-9 Enumerați caracteristicile majore utilizate pentru a diferenția cele trei regate ale Eukarya multicelulare.

10-10 Definiți protist.

10-11 Diferențierea speciilor eucariote, procariote și virale.

Organismele vii sunt grupate în funcție de caracteristici similare (clasificare), iar fiecărui organism i se atribuie un nume științific unic. Regulile de clasificare și denumire, care sunt folosite de biologii din întreaga lume, sunt discutate în continuare.

Nomenclatura științifică

Într-o lume locuită de milioane de organisme vii, biologii trebuie să fie siguri că știu exact despre ce organism se discută. Nu putem folosi nume comune, deoarece același nume este adesea folosit pentru multe organisme diferite în locații diferite. De exemplu, există două organisme diferite cu denumirea comună de mușchi spaniol și niciunul nu este de fapt un mușchi. În plus, limbile locale sunt folosite pentru numele comune. Deoarece numele comune pot induce în eroare și sunt în limbi diferite, în secolul al XVIII-lea a fost dezvoltat un sistem de nume științifice, denumit nomenclatură științifică.

Amintiți-vă din capitolul 1 (pagina 3) că fiecărui organism i se atribuie două nume sau un binom. Aceste nume sunt numele genului și epitetul specific (specia), iar ambele nume sunt tipărite subliniate sau italice. Numele genului este întotdeauna scris cu majuscule și este

întotdeauna un substantiv. Numele speciei este litere mici și este de obicei un adjectiv. Deoarece acest sistem dă două nume fiecărui organism, sistemul se numește nomenclatură binomială.

Să luăm în considerare câteva exemple. Propul nostru gen și epitetul specific sunt Homo sapiens (ho'mo să'pe-ens). Substantivul sau genul înseamnă om; adjectivul, sau epitetul specific, înseamnă înțelept. Un mucegai care contaminează pâinea se numește Rhizopus stolonifer (ri'zo-pus sto'ion-i-fer). Rhizo- (rădăcină) descrie structuri asemănătoare rădăcinilor de pe ciupercă; stolo- (un lăstar) descrie hifele lungi, „able 1.1 de la pagina 4 conține mai multe exemple.

Binomele sunt folosite de oamenii de știință din întreaga lume, indiferent de limba lor maternă, ceea ce le permite să împărtășească cunoștințele în mod eficient și precis. Mai multe entități științifice sunt responsabile pentru stabilirea regulilor care guvernează denumirea organismelor. Regulile de atribuire a numelor protozoarelor și viermilor paraziți sunt publicate în Codul internațional de nomenclatură zoologică. Regulile pentru atribuirea denumirilor pentru ciuperci și alge sunt publicate în Codul Internațional de Nomenclatură Botanică. Regulile pentru denumirea procariotelor nou clasificate și pentru atribuirea procariotelor taxonilor sunt stabilite de Comitetul Internațional pentru Sistematica Procariotelor și sunt publicate în Codul bacteriologic. Descrierile procariotelor și dovezile pentru clasificările lor sunt publicate în Jurnalul Internațional de Microbiologie Sistematică și Evolutivă înainte de a fi încorporate într-o referință numită Manualul lui Bergey. Conform Codului bacteriologic, denumirile științifice trebuie luate din latină (un nume de gen poate fi luat din greacă) sau latinizate prin adăugarea sufixului corespunzător. Sufixele pentru ordine și familie sunt -ales și, respectiv, -aceae.

Pe măsură ce noile tehnici de laborator fac posibile caracterizări mai detaliate ale microbilor, două genuri pot fi reclasificate ca un singur gen sau un gen poate fi împărțit în două sau mai multe genuri. De exemplu, genul D iplococc este ad St ej >. < .cccus au fost combinate în 1974; singura specie diplococică se numește acum Streptococcus pneumoniae. În 1984, studiile de hibridizare a ADN-ului au indicat că „Streptococcus faecalis” și „Streptococcus faecium” erau înrudite doar la distanță cu celelalte specii de streptococi; în consecință, a fost creat un nou gen numit Enterococcus, iar aceste specii au fost redenumite E. faecalis și E. faecium (fe'se-um).

În 2001, pe baza hibridizării ADN-ADN și a studiilor ARNr, unele specii de Chlamydia au fost mutate într-un nou gen, Chlamydophila, pe baza analizei ARNr (vezi pagina 292). Efectuarea tranziției la un nume nou poate fi confuză, așa că numele vechi este adesea scris între paranteze. De exemplu, un medic care caută informații despre cauza simptomelor asemănătoare pneumoniei (melioidoză) ale unui pacient ar găsi numele bacterian Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei (berk'hold-er-ea su-do-mal'le-e).

Obținerea denumirii organismului este importantă în determinarea tratamentului de utilizat; medicamentele antifungice nu vor funcționa împotriva bacteriilor, iar medicamentele antibacteriene nu vor funcționa împotriva virușilor.

Ierarhia taxonomică

Toate organismele pot fi grupate într-o serie de subdiviziuni care alcătuiesc ierarhia taxonomică. Linnaeus a dezvoltat această ierarhie pentru clasificarea sa a plantelor și animalelor. O specie eucariotă este un grup de organisme strâns înrudite care se înmulțesc între ele. (Speciile bacteriene vor fi discutate în scurt timp.) Un gen este format din specii care diferă unele de altele în anumite moduri, dar sunt înrudite prin descendență. De exemplu, Quercus (kwer'kus), numele genului pentru stejar, este format din toate tipurile de stejar (stejar alb, stejar roșu, stejar bur, stejar catifelat și așa mai departe). Chiar dacă fiecare specie de stejar diferă de orice altă specie, toate sunt înrudite genetic La fel cum un număr de specii alcătuiesc un gen, genurile înrudite formează o familie. Un grup de familii similare constituie un ordin, iar un grup de ordine similare alcătuiește o clasă. Clasele înrudite, la rândul lor, alcătuiesc un filum. Astfel, un anumit organism (sau specie) are un nume de gen și un epitet specific și aparține unei familii, ordini, clase și filum.

Toate phyla care sunt înrudite între ele formează un regat, iar regnurile înrudite sunt grupate într-un domeniu (Figura 10.5).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Folosind Escherichia coli și Entamoeba coli ca exemple, explicați de ce numele genului trebuie întotdeauna scris pentru prima utilizare. De ce este preferabilă nomenclatura binomială decât utilizarea denumirilor comune? 10-6

Găsiți bacteriile gram-pozitive Staphylococcus în Anexa F.

1 o care bacterii este acest gen mai strâns înrudit: Bacillus sau Streptococcus? 10-7

Clasificarea procariotelor

Schema de clasificare taxonomică pentru procariote se găsește în Manualul lui Bergey de bacteriologie sistematică, ediția a 2-a (vezi

Filum

Ascomycota

Clasă

Hemiascomicete

Comanda

Saccharomycetales

Euryarheota

Metanococi

Metanococali

Familial

Saccharomycetaceae

Methanococcaceae

Gen

Saccharomyces

Metanotermococ

Specie

Eu iau drojdie

M. okinawensis

Metanococ

Proteobacterii

Gamaproteobacterii

O cz>

Enterobacteriale

Enterobacteriaceae

.

Escherichia

CT3-

E. coli

0.5 seara

E. coli

Figura 10.5 Ierarhia taxonomică. Organismele sunt grupate în funcție de relație. Speciile care sunt strâns înrudite sunt grupate într-un gen. De exemplu, drojdia de brutar aparține genului care include drojdia de aluat (Saccharomyces exiguus). Genurile înrudite, cum ar fi Saccharomyces și Candida, sunt plasate într-o familie și așa mai departe. Fiecare grup este mai cuprinzător. Domeniul Eukarya include toate organismele cu celule eucariote.

Care este definiția biologică a familiei?

Anexa F). În Manualul lui Bergey, procariotele sunt împărțite în două domenii: Bacteriile și Archaea. Fiecare domeniu este împărțit în phyla. Amintiți-vă, clasificarea se bazează pe asemănări în secvențele de nucleotide din ARNr. (Hasses sunt împărțite în ordine; ordine, în familii; familii, în genuri; și genuri, în specii.

O specie procariotă este definită oarecum diferit de o specie eucariotă, care este un grup de organisme strâns înrudite

Figura 1 0.6 Relații filogenetice ale procariotelor. Săgețile indică liniile majore de descendență a grupurilor bacteriene. Filele selectate sunt indicate prin casetele albe.

Membrii căror filum pot fi identificați prin colorație Gram?

care se pot încrucișa. Spre deosebire de reproducerea în organismele eucariote, diviziunea celulară în bacterii nu este direct legată de conjugarea sexuală, care este rar și nu trebuie să fie întotdeauna specifică speciei. Prin urmare, o specie procariotă este definită pur și simplu ca o populație de celule cu caracteristici similare. (Tipurile de caracteristici vor fi discutate mai târziu în acest capitol.) Membrii unei specii de bacterii nu se disting în esență unul de celălalt, dar se disting de membrii altor specii, de obicei pe baza mai multor caracteristici. După cum știți, bacteriile crescute la un moment dat în medii sunt numite cultură. O cultură pură este adesea o clonă, adică o populație de celule derivate dintr-o celulă părinte unică. Toate celulele din clonă ar trebui să fie identice. Cu toate acestea, în unele cazuri, culturile pure ale aceleiași specii nu sunt identice în toate privințele. Fiecare astfel de grup se numește tulpină. Tulpinile sunt identificate prin numere, litere sau nume care urmează epitetului specific.

Manualul Bergeys oferă o referință pentru identificarea bacteriilor în laborator, precum și o schemă de clasificare a bacteriilor. O schemă pentru relațiile evolutive ale bacteriilor este prezentată în Figura 10.6. Caracteristicile utilizate pentru clasificarea și identificarea bacteriilor sunt discutate în Capitolul 11.

Clasificarea eucariotelor

Unele regate din domeniul Eukarya sunt prezentate în Figura 10.1.

În 1969, organisme eucariote simple, în cea mai mare parte unicelulare, au fost grupate ca Regatul Protista, un regat captivant pentru o varietate de organisme. Din punct de vedere istoric, organisme eucariote care nu se potriveau în alte regate au fost plasate în Protista. Aproximativ 200.000 de specii de protistani au fost identificate până acum, iar aceste organisme sunt destul de diverse din punct de vedere nutrițional – de la fotosintetice la paraziți intracelulari obligatorii. Secvențierea ARN-ului ribozomal face posibilă împărțirea protiștilor în grupuri pe baza descendenței lor din strămoși comuni. În consecință, deocamdată, organismele clasificate cândva ca protisti sunt împărțite în clade, adică grupuri înrudite genetic. Pentru comoditate, vom continua să folosim termenul protist pentru a ne referi la eucariotele unicei mlar și rudele lor apropiate. . Aceste organisme vor fi discutate în capitolul 12.

Ciupercile, plantele și animalele alcătuiesc cele trei regnuri ale organismelor eifkdriotice mai complexe, dintre care majoritatea sunt multicelulare.

Regatul Fungi include drojdiile unicelulare, mucegaiurile multicelulare și speciile macroscopice, cum ar fi ciupercile.

Pentru a obține materii prime pentru funcțiile vitale, o ciupercă absoarbe materia organică dizolvată prin membrana plasmatică. Celulele unei ciuperci multicelulare sunt de obicei unite pentru a forma tuburi subțiri numite hife. Hifele sunt de obicei împărțite în unități multinucleate prin pereți transversali care au găuri, astfel încât citoplasma să poată curge între unitățile asemănătoare celulelor. Ciupercile se dezvoltă din spori sau din fragmente de hife. (Consultați Figura 12.2, pagina 332.)

Regatul Plantae (plantele) include unele alge și toți mușchi, ferigi, conifere și plante cu flori. Toți membrii acestui regat sunt multicelulari. Pentru a obține energie, o plantă folosește fotosinteza, procesul care transformă dioxidul de carbon și apa în molecule organice folosite de celulă.

Regatul organismelor multicelulare numit Animalia (animale) include bureți, diverși viermi, insecte și animale cu coloană vertebrală (vertebrate). Animalele obțin nutrienți și energie prin ingerarea materiei organice printr-o gură.

Clasificarea Virușilor

j utilizările nu sunt clasificate ca parte a niciunuia dintre cele trei domenii. Virușii nu sunt formați din celule și folosesc mecanismele anabolice din celulele gazdă vii pentru a se multiplica. Un genom viral poate direcționa biosinteza în interiorul unei celule gazdă, iar unii genomi virali pot fi încorporați în genomul gazdă. Nișa ecologică a unui virus este celula gazdă specifică a acestuia, astfel încât virușii pot fi mai strâns legați de gazdele lor decât de alți viruși. Comitetul Internațional pentru Taxonomia Virușilor definește o specie virală ca o populație de viruși cu caracteristici similare (inclusiv morfologie, gene și enzime) care ocupă o anumită nișă ecologică.

Virușii sunt paraziți intracelulari obligatorii. Genele virale purtate în genomul altor organisme oferă o înregistrare a evoluției virale. Analize recente arată că genele de bornavirus s-au integrat în mamifere, inclusiv în oameni, cu cel puțin 40 de milioane de ani în urmă. Există trei ipoteze privind originea virusurilor: (1) Ei au apărut din catenele de acizi nucleici care se replic independent (cum ar fi plasmidele). (2) S-au dezvoltat din celule degenerative care, de-a lungul multor generații, și-au pierdut treptat capacitatea de a supraviețui independent, dar au putut supraviețui atunci când sunt asociate cu o altă celulă. (3) Au coevoluat cu celulele gazdă. De exemplu, s-a emis ipoteza că peretele celular bacterian a oferit un avantaj de selecție pentru a evita infectarea. Apoi ar fi selectați virusurile mutante care ar putea pătrunde în peretele celular. Virușii vor fi discutați în capitolul 13.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Utilizați termenii specie, cultură, clonă și tulpină într-o singură propoziție pentru a descrie creșterea Staphylococcus aureus rezistent la meticilină (MRSA). 10-8

Să presupunem că ai descoperit un nou organism: este multicelular, este nucleat, este heterotrof și are pereți celulari. Cărui regat aparține? 10-9

Scrieți propria definiție a lui p roti st. 10-10

VZhy definiția unei specii virale nu ar funcționa pentru o specie bacteriană? 10-11

Metode de clasificare și lentiificare a microorganismelor

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

10-12 Comparați și contrastați clasificarea și identificarea.

10-13 Explicați scopul manualului lui Bergey.

10-14 Descrieți modul în care colorarea și testele biochimice sunt utilizate pentru a identifica bacteriile.

10-15 Diferențierea Western blot de Southern blot.

10-16 Explicați modul în care testele serologice și tiparea fagilor pot fi utilizate pentru a identifica o bacterie necunoscută.

10-17 Descrieți modul în care un microbi nou descoperit poate fi clasificat după compoziția bazei ADN, amprentarea ADN și PCR.

10-18 Descrieți modul în care microorganismele pot fi identificate prin hibridizare cu acid nucleic, Southern blot, cipuri ADN, ribotipizare și FISH.

10-19 Diferențiază o cheie dihotomică de o cladogramă.

O schemă de clasificare oferă o listă de caracteristici și un mijloc de comparare pentru a ajuta la identificarea unui organism. Odată ce un organism este identificat, acesta poate fi plasat într-o schemă de clasificare concepută anterior. Microorganismele sunt identificate în scopuri practice - de exemplu, pentru a determina un tratament adecvat pentru o infecție. Ele nu sunt neapărat identificate prin aceleași tehnici prin care sunt clasificate. Majoritatea procedurilor de identificare se realizează cu ușurință într-un laborator și folosesc cât mai puține proceduri sau teste posibil. Protozoarele, viermii paraziți și ciupercile pot fi de obicei identificate microscopic. Majoritatea organismelor procariote nu au caracteristici morfologice distinctive sau chiar variații mari în dimensiune și formă. În consecință, microbiologii au dezvoltat o varietate de metode pentru a testa reacțiile metabolice și alte caracteristici pentru a identifica procariotele.

Manualul Bergeys de bacteriologie determinativă a fost o referință utilizată pe scară largă de când prima ediție a fost publicată în 1923. Bacteriologul american David Bergey a fost președintele grupului care a compilat informații despre bacteriile cunoscute din articolele publicate în reviste științifice. Manualul Bergeys de bacteriologie determinativă (ed. a 9-a, 1994) nu clasifică bacteriile în funcție de relația evolutivă, ci oferă scheme de identificare (determinative) bazate pe criterii precum compoziția peretelui celular, morfologia, colorarea diferențială, cerințele de oxigen și testarea biochimică. Majoritatea bacteriilor și arheilor nu au fost cultivate, iar oamenii de știință estimează că doar 1% dintre acești microbi au fost descoperiți.

„Atât Manualul lui Bergey de bacteriologie sistematică (vezi pagina 278) cât și Manualul lui Bergey de bacteriologie determinativă sunt denumite pur și simplu Manualul lui Bergey; titlurile complete sunt folosite atunci când informația în discuție se găsește într-unul, dar nu în celălalt, de exemplu, un tabel de identificare.

Decese în masă ale mamiferelor marine

În ultimul deceniu, mii de mamifere marine au murit în mod neașteptat în întreaga lume. Aceste decese apar la focare de la o duzină la mii de mamifere, iar microbiologii încearcă să determine cauza în fiecare focar. . Moartea a peste 100 de delfini în 2010 în nordul Golfului Mexic este investigată. Aceste decese au avut loc înainte de explozia puțului Deepwater Horizon în aprilie 2010. Toxoplasmoza a ucis vidrele de mare din California în număr tot mai mare. Scăderea actuală a populației de vidre de mare de Sud este rezultatul unei rate de mortalitate de 40% din cauza unei varietăți de boli bacteriene infecțioase. Aceste cifre ale mortalității ridică îngrijorarea că populațiile întregi de mamifere marine ar putea fi în cele din urmă distruse.

În 2009, opt delfini morți în Australia au fost atribuite infecțiilor oportuniste. Un număr mare de agenți patogeni oportuniști, inclusiv 55 de specii de Vibrio, au fost, de asemenea, din cauza disponibilității lor pentru cercetători, microbiologia animalelor sălbatice, în special a mamiferelor marine, este un domeniu relativ nou în curs de dezvoltare. Colectarea

probelor de la animalele care trăiesc în oceanul deschis și efectuarea de analize bacteriologice asupra acestora este foarte dificilă. În prezent, animalele studiate sunt cele care au rămas eșuate (Figura A) și cele care vin pe țărm pentru a se reproduce, precum leul de mare cu blană de nord.

Microbiologii identifică bacteriile la mamiferele marine utilizând baterii de testare convenționale (Figura E0 și date genomice ale speciilor cunoscute. Noi specii de bacterii sunt găsite la mamiferele marine folosind tehnica FISH (vezi pagina 292).

Microbiologii veterinari speră că un studiu sporit al microbiologiei animalelor sălbatice, inclusiv a mamiferelor marine, nu numai că va promova o gestionare îmbunătățită a vieții sălbatice, ci va oferi și modele pentru studiul bolilor umane;

găsit la delfini. Aceste bacterii fac parte din microbiota normală a delfinilor și din biota apelor de coastă. Ele pot provoca boli numai dacă sistemul imunitar al animalelor, apărarea lor normală împotriva infecțiilor, a fost slăbit. Moartea delfinilor de lagună și a vidrelor de mare se poate datora contaminanților din scurgerile de apă dulce de coastă.

Virusul phocid distemper la foci și cetacee morb! Ilivirusul (CM) a fost responsabil pentru moartea a 20.000 de mamifere marine în apele europene și pentru episoadele de mortalitate recurente la delfinii cu muzeu de-a lungul coastei atlantice a Statelor Unite. Dovezile sugerează că balenele pilot ar putea fi responsabile pentru transferul virusului CM către alte specii pe întinderi mari de ocean.

Informațiile sunt rare

Astfel de întrebări sunt preocuparea microbiologiei veterinare, care până de curând a fost o ramură neglijată a microbiologiei medicale. Deși au fost studiate boli ale animalelor precum bovinele, găinile și nurcile, parțial

Da

Oxidaza?

Nu

Reacția Gram?

Cocci

Tije

Citrat folosit? Erysipelothrix Staphylococcus

Da

Nu

aynipuiuuinx mapnyiococcus rhusiopathiae aureus

Klebsiella Yersinia
pneumoniae enterocolitica

Bordetella
bronchiseptica

indol

Da

Aeromonas
hydrophila

Da

Nu

Pasteurella multocida

Acetoină produsă? (test VP)

Figura B Teste biochimice utilizate pentru a identifica specii selectate de agenți patogeni umani izolați de la mamiferele marine.

Să presupunem că ați izolat o baghetă gram-negativă care este oxidază-pozitivă, este indol-negativă, . si nu produce ureaza sau acetoina. Ce este bacteria?

Filiere de către o persoană   Completată de altă persoană

Figura 10.7 Un formular de raport de laborator de microbiologie clinică. În îngrijirea sănătății, morfologia și colorarea diferențială sunt importante în determinarea tratamentului adecvat pentru bolile microbiene. Un clinician completează formularul pentru a identifica proba și testele specifice. În acest caz, o probă genito-urinar va fi examinată pentru infecții cu transmitere sexuală. Notațiile roșii sunt raportul tehnicianului de laborator cu privire la rezultatele colorației Gram și a culturii. [Concentrația minimă inhibitorie (MIC) a antibioticelor va fi discutată în capitolul 20, pagina 578]

Ce boli sunt suspectate dacă se bifează caseta „bacili acido-resistente”?

Microbiologia medicală (ramura microbiologiei care se ocupă cu agenții patogeni umani) a dominat interesul pentru microbi, iar acest interes se reflectă în multe scheme de identificare. Totuși, pentru a pune în perspectivă proprietățile patogene ale bacteriilor, dintre cele peste 2600 de specii enumerate în Listele aprobate de denumiri bacteriene, mai puțin de 10% sunt agenți patogeni umani. ..

În continuare discutăm câteva criterii și metode pentru clasificarea și identificarea de rutină a microorganismelor. Pe lângă proprietățile organismului însuși, sursa și habitatul unui izolat bacterian sunt considerate ca parte a proceselor de identificare. În microbiologia clinică, un medic va tampona puroiul sau suprafața țesutului unui pacient. Tamponul este introdus într-un tub de mediu de transport. Mijloacele de transport nu sunt de obicei nutritive și sunt concepute pentru a prelungi viabilitatea agenților patogeni pretențioși. Medicul va nota tipul de eșantion și testul (testele) solicitate pe un formular de solicitare de laborator (Figura 10.7). Informațiile returnate de tehnicianul de laborator îl vor ajuta pe medic să înceapă tratamentul (vezi caseta din Capitolul 5, pagina 142).

Pot
fermenta lactoza?

-

Da

Pot folosi
acidul citric ca
unică sursă de carbon?

Pot folosi
acidul citric ca
unică sursă de carbon?

L ' .■ .

Figura 10.8 Utilizarea caracteristicilor metabolice pentru a identifica genurile selectate de bacterii enterice.

Să presupunem că aveți o bacterie gramnegativă care produce acid din lactoză și nu poate folosi acidul citric ca unică sursă de carbon. Ce este bacteria?

Da

Da

Shigella:

; produce lizin
decarboxilază

Salmonella:
produce în general H2S

Pot
fermenta
zaharoza?

Produc ele acetoină?

kDa

Escherichia spp. E. coli 0157

Caracteristici morfologice

Caracteristicile morfologice (structurale) i-au ajutat pe taxonomi să clasifice organismele timp de 200 de ani. Organismele superioare sunt frecvent clasificate în funcție de detaliile anatomice observate. Dar multe microorganisme arată prea asemănătoare pentru a fi clasificate după structurile lor. Prin intermediul unui microscop, organismele care ar putea diferi în proprietăți metabolice sau fiziologice pot arăta la fel. Literal, sute de specii bacteriene sunt tije mici sau coci mici.

Mărimea mai mare și prezența structurilor intracelulare nu înseamnă întotdeauna o clasificare ușoară, totuși. Pneumonia cu pneumocystis (nu-mb-sis'tis) este cea mai frecventă infecție oportunistă la SIDA și la alți pacienți imunocompromiși. Până la epidemia de SIDA, agentul cauzal al acestei infecții, P.jirovecii (ye-rd'vet-ze-e) [fost „P. carinii" (kar-i' ne-e)] a fost rar întâlnit la om. Pneumocystis nu are structuri care pot fi utilizate cu ușurință pentru identificare (vezi Figura 24.20, pagina 705), iar poziția sa taxonomică a fost incertă de la descoperirea sa în 1909 de către Carlos Chagas la șoareci. A fost inițial clasificat ca protozoar; cu toate acestea, în 1988, secvențierea ARNr a arătat că Pneumocystis este de fapt un membru al Regatului Fungi. Noi tratamente sunt investigate, deoarece cercetătorii iau în considerare legătura acestui organism cu ciupercile. .

Morfologia celulară ne spune puțin despre relațiile filogenetice. Cu toate acestea, caracteristicile morfologice sunt încă utile în identificarea bacteriilor. De exemplu, diferențele în structuri precum endosporii sau flagelii pot fi de ajutor.

Colorare diferențială

Amintiți-vă din capitolul 3 că unul dintre primii pași în identificarea bacteriilor este colorarea diferențială. Majoritatea bacteriilor sunt fie grampozitive, fie gram negative. Alte pete diferențiale, cum ar fi colorarea acido-rezistentă, pot fi utile pentru un grup mai limitat de microorganisme. Amintiți-vă că aceste pete se bazează pe compoziția chimică a pereților celulari și, prin urmare, nu sunt utile în identificarea bacteriilor fără perete sau a arheilor cu pereți neobișnuiți. Examinarea microscopică a unei colorații Gram sau a unei colorații acido-rezistente este utilizată pentru a obține rapid informații în mediul clinic.

Teste biochimice

Activitățile enzimatice sunt utilizate pe scară largă pentru diferențierea bacteriilor. Chiar și bacteriile strâns înrudite pot fi de obicei separate în specii distincte prin supunerea lor la teste biochimice, cum ar fi unul pentru a determina capacitatea lor de a fermenta un sortiment de carbohidrați selectați. Pentru un exemplu de utilizare a testelor biochimice pentru identificarea bacteriilor (în acest caz, la mamiferele marine), vezi caseta de la pagina 282. În plus, testele biochimice pot oferi o perspectivă asupra unei nișe de specii din ecosistem. De exemplu, o bacterie care poate fixa azotul gazos sau oxida sulful elementar va oferi nutrienți importanți pentru plante și animale. Acest lucru va fi discutat în capitolul 27.

Bacteriile enterice gram-negative sunt un grup mare eterogen de microbi al căror habitat natural este tractul intestinal al oamenilor și al altor animale. Această familie conține mai mulți agenți patogeni care cauzează dia -'vindecarea bolilor. Au fost dezvoltate astfel o serie de teste; Medicii pot identifica rapid agenții patogeni, un clinician poate oferi apoi un tratament adecvat, iar epidemiologii pot localiza sursa unei boli. Toți membrii familiei Enterobacteria-ceae sunt oxidază negativă. Printre bacteriile enterice se numără membrii genurilor Escherichia, Enterobacter, Shigella, Citrobacter și Salmonelld. t.scherichia, Enterobacter și Citrobacter, care ferigă lac toză pentru a produce acid și gaz, pot fi distinse de Salmonella și Shigella, care nu. Testele biochimice suplimentare, așa cum sunt reprezentate în figura 10.8, pot diferenția între genuri.

Un tub care conține medii pentru 15 teste biochimice este inoculat cu o bacterie enterică necunoscută.

După incubare, tubul este observat pentru rezultate.

Compararea valorii ID rezultată cu o listă computerizată arată că organismul din tub este Proteus mirabilis.

Figura 10.9 Un tip de metodă de identificare rapidă a bacteriilor: Enterotube II din

Becton Dickinson. Acest exemplu arată rezultatele pentru o tulpină tipică de P. mirabilis; cu toate acestea, alte tulpini pot produce rezultate diferite ale testelor, care sunt enumerate în coloana Rezultate atipice ale testelor. Testul VP este utilizat pentru a confirma o identificare.

Cum poate o specie să aibă două valori ID diferite?

Timpul necesar identificării bacteriilor poate fi redus considerabil prin utilizarea mediilor selective și diferențiale sau prin metode de identificare rapidă. Amintiți-vă din capitolul 6 (pagina 165) că mediile selective conțin ingrediente care suprimă creșterea organismelor concurente și încurajează creșterea celor dorite și că mediile diferențiale permit organismului dorit să formeze o colonie care este într-un fel distinctă.

Manualul lui Bergey nu evaluează importanța relativă a fiecărui test biochimic și nu descrie întotdeauna tulpinile. În diagnosticarea unei infecții, clinicienii trebuie să identifice o anumită specie și chiar o anumită tulpină pentru a continua cu un tratament adecvat. În acest scop, au fost dezvoltate serii specifice de teste biochimice pentru identificarea rapidă în laboratoarele

spitalelor. Au fost dezvoltate sisteme de testare rapidă pentru drojdii și alte ciuperci, precum și pentru bacterii.

Metode de identificare rapidă sunt fabricate pentru grupuri de bacterii importante din punct de vedere medical, cum ar fi entericele. Astfel de instrumente sunt concepute pentru a efectua mai multe teste biochimice simultan și pot identifica bacteriile în decurs de 4 până la 24 de ore. Aceasta se numește uneori identificare numerică deoarece rezultatelor fiecărui test i se atribuie un număr. În cea mai simplă formă, unui test pozitiv i se atribuie o valoare de 1, iar unui test negativ i se atribuie o valoare de 0. În majoritatea truselor de testare comerciale, rezultatelor testelor li se atribuie numere cuprinse între 1 și 4, care se bazează pe fiabilitatea și importanța relativă a fiecărui test, iar totalul rezultat este comparat cu o bază de date de organisme cunoscute.

În exemplul prezentat în Figura 10.9, o bacterie enterică necunoscută este inoculată într-un tub proiectat pentru a efectua 15 teste biochimice. După incubare, rezultatele în fiecare compartiment

Aglutinarea are loc atunci când bacteriile sunt amestecate

cu .

sunt înregistrate. Observați că fiecărui test i se atribuie o valoare; numărul derivat din punctarea tuturor testelor se numește valoarea ID. Fermentarea glucozei este importantă, iar o reacție pozitivă este evaluată la 2, în comparație cu producerea de acetoină (testul VP, sau testul Vbges-Proskauer), care nu are valoare.

O interpretare computerizată a rezultatelor testelor simultane este esențială și este furnizată de producător. O limitare a testării biochimice este că mutațiile și achiziția de plasmide pot duce la tulpini cu caracteristici diferite. Dacă nu se utilizează un număr mare de teste, un organism poate fi identificat incorect.

Caz clinic

Laboratorul nu poate doar colora Gram o probă de scaun pentru a căuta un agent patogen bacterian. Numărul mare de baghete gram-negative ar fi imposibil de distins într-o colorație Gram făcută direct din fecale. Proba de scaun trebuie cultivată pe medii selective și diferențiate pentru a distinge bacteriile din scaun. Proba de scaun a Monicăi este cultivată pe agar sulfit de bismut. Coloniile negre sunt prezente pe agar după 24 de ore.

Pot să crească bacteriile gram-positive pe acest mediu? Consultați capitolul 6 dacă aveți nevoie de un indiciu.

Serologie

Serologia este știința care studiază serul și răspunsurile imune care sunt evidente în ser (vezi capitolul 18). Microorganismele sunt antigenice; adică microorganismele care intră în corpul unui animal îl stimulează să formeze anticorpi. Anticorpii sunt proteine care circulă în sânge și se combină într-un mod foarte specific cu bacteriile care au determinat producerea lor. De exemplu, sistemul imunitar al unui iepure injectat cu bacterii tifoide ucise (antigeni) răspunde producând anticorpi împotriva bacteriilor tifoide. Soluțiile unor astfel de anticorpi utilizați în identificarea multor microorganisme importante din punct de vedere medical sunt disponibile comercial; o astfel de soluție se numește antiser (plural: antiser). Dacă o bacterie necunoscută este izolată de la un pacient, aceasta poate fi testată împotriva antiserurilor cunoscute și adesea identificată rapid.

Într-o procedură numită test de aglutinare a lamei, mostrele unei bacterii necunoscute sunt plasate într-o picătură de soluție salină pe fiecare dintre mai multe lame. Apoi, la fiecare probă se adaugă un antiser cunoscut diferit. Bacteriile se aglutinează (clump) atunci când sunt amestecate cu anticorpi care au fost produși ca răspuns la acea specie sau tulpină de bacterie; un test pozitiv este indicat de prezența aglutinarii. Testele de aglutinare cu lame pozitive și negative sunt prezentate în Figura 10.10.

Testarea serologică poate diferenția nu numai între speciile microbiene, ci și între tulpinile din cadrul speciilor. Tulpinile cu antigeni diferiți se numesc serotipuri, serovare sau biovaruri. Vezi discuția despre serovariile Escherichia și Salmonella la pagina 310. După cum sa menționat în Capitolul 1, Rebecca Lancefield a fost capabilă să clasifice serotipurile de streptococi prin studierea reacțiilor serologice. Ea a descoperit că diferiții antigeni din pereții celulari ai diferitelor serotipuri de streptococi stimulează formarea diferiților anticorpi. În schimb, deoarece bacteriile strâns înrudite produc, de asemenea, unele dintre aceleași antigene, testarea serologică poate fi utilizată pentru a verifica izolatele bacteriene pentru posibile asemănări. Dacă un antiser reacționează cu proteine de la diferite specii sau tulpini bacteriene, aceste bacterii pot fi testate în continuare pentru înrudire.

Testarea serologică a fost utilizată pentru a determina dacă creșterea numărului de cazuri de fasciită necrozantă în Statele Unite și Anglia din 1987 sa datorat unei surse comune a infecțiilor. Nu a fost localizată nicio sursă comună, dar a existat o creștere a două serotipuri de Streptococcus pyogenes care au fost numite bacterii „mâncător de carne”.

Un test numit test imunosorbent legat de enzime (Ab SA) este utilizat pe scară largă deoarece este rapid și poate fi citit de un scaner < ompiter (Figura 10.11; vezi și Figura 18.14, pagina 523). Într-un ELISA direct, anticorpii cunoscuți sunt plasați în (și aderă la) godeurile unei microplăci și se adaugă un tip necunoscut de bacterie în fiecare godeu. O reacție între anticorpii cunoscuți și bacterii asigură identificarea

bacteriilor. Un ELISA este utilizat în testarea SIDA pentru a detecta prezența anticorpilor împotriva virusului imunodeficienței umane (HIV), virusul care provoacă SIDA (vezi Figura 19.13, pagina 546).

Andtlier serologica. testul, Western blot, este, de asemenea, utilizat pentru a identifica anticorpii în serul pacientului (Figura 10.12). infecție cu HIV

este confirmată de Western blot, iar boala Lyme, cauzată de Borrelia burgdorferi, este adesea diagnosticată prin Western blot.

Proteinele dintr-o bacterie sau virus cunoscut sunt separate printr-un curent electric în electroforeză.

Proteinele sunt apoi transferate într-un filtru prin blotting.

0 Serul pacientului este spălat peste filtru. Dacă pacientul are anticorpi la una dintre proteinele din filtru (în acest caz, proteine Borrelia), anticorpii și proteina se vor combina. Ser anti-uman legat de o enzimă este apoi spălat peste filtru.

O Aceasta va fi vizibilă ca o bandă colorată pe filtru după adăugarea substratului enzimei.

Caz clinic

Agar-sulfit de bismut inhibă creșterea bacteriilor gram-pozitive; este folosit pentru a distinge bacteriile gram-negative. Cultura din proba de scaun a Monicăi dezvăluie că aceasta a fost infectată cu bacteria Salmonella. Există doar două specii de Salmonella: S. enterica și S. bongori. Infecția Monicăi este cauzată de S. enterica; cu toate acestea, există peste 2500 de serovarii de S. enterica care pot infecta oamenii. La primirea rezultatelor de la laborator, asistenta medicală practicantă a Monicăi sună Departamentul de Sănătate din Nevada pentru a-i informa despre diagnosticul pacientului ei și pentru a-i anunța că prietena Monicăi are aceleași simptome. Este important ca departamentul de sănătate să identifice serovarul pentru a determina dacă există un focar dintr-o singură sursă și pentru a urmări acea sursă.

Cum va identifica departamentul de sănătate serovarul corect de S. enterica?

287

Tastarea fagilor

La fel ca testele serologice, tiparea fagilor caută asemănări între bacterii. Ambele tehnici sunt utile pentru a urmări originea și cursul unui focar de boală. Tiparea fagilor este un test pentru a determina la ce fagi este susceptibilă o bacterie. Amintiți-vă din Capitolul 8 (pagina 234) că bacteriofagii (fagii) sunt viruși bacterieni și că de obicei provoacă liza celulelor bacteriene pe care le infectează. Sunt foarte specializati, prin aceea că de obicei infectează numai membrii unei anumite specii sau chiar anumite tulpini din cadrul unei specii. O

tulpină bacteriană ar putea fi susceptibilă la doi fagi diferiți, în timp ce o altă tulpină din aceeași specie ar putea fi sensibilă la acești doi fagi plus un al treilea fag. Bacteriofagele vor fi discutate în continuare în capitolul 13.

Sursele infecțiilor asociate cu alimentele pot fi urmărite prin tiparea fagilor. O versiune a acestei proceduri începe cu o placă acoperită complet cu bacterii care cresc pe agar. O picătură din fiecare tip de fag diferit care urmează să fie utilizat în test este apoi plasată pe bacterie. Oriunde fagii sunt capabili să infecteze și să lizeze celulele bacteriene, apar limpeziri în creșterea bacteriană (numite plăci) (Figura 10.13). Un astfel de test ar putea arăta, de exemplu, că bacteriile izolate dintr-o plagă chirurgicală au același model de sensibilitate la fagi ca cele izolate de la chirurgul operator sau asistentele chirurgicale. Acest rezultat stabilește că sursa de infecție este chirurgul sau asistenta.

Profiluri de acizi grași

Bacteriile sintetizează o mare varietate de acizi grași și, în general, acești acizi grași sunt constanti pentru o anumită specie. Sistemele comerciale au fost concepute pentru a separa acizii grași celulari pentru a-i compara cu profilurile de acizi grași ale organismelor cunoscute. Profilele de acizi grași, numite FAME (/atty acid metil ester), sunt utilizate pe scară largă în laboratoarele clinice și de sănătate publică.

Citometrie în flux

Citometria în flux poate fi utilizată pentru a identifica bacteriile dintr-o probă fără cultivarea bacteriilor. Într-un citometru de flux, o mișcare

ft'lj) Dacă boala Lyme este suspectată la un pacient: electroforeza este utilizată pentru a separa proteinele Borrelia burgdorferi în ser. Proteinele se mișcă la viteze diferite în funcție de sarcina și dimensiunea lor atunci când gelul este expus la un curent electric.

'■$) Benzile se transferă pe un filtru de nitroceluloză prin blotting. Fiecare bandă constă din mai multe molecule ale unei anumite proteine (antigen). Benzile nu sunt vizibile în acest moment.

Q Proteinele (antigenele) sunt poziționate pe filtru exact așa cum au fost pe gel. Filtrul este apoi spălat cu serul pacientului urmat de anticorpi anti-umani marcați cu o enzimă. Anticorpii pacientului care se combină cu antigenul lor specific sunt vizibili (prezentați aici cu roșu) atunci când se adaugă substratul enzimei.

f Testul este citit. Dacă anticorpii marcați se lipesc de filtru, s-au găsit dovezi ale prezenței microorganismului în cauză — în acest caz, B. burgdorferi — în serul pacientului.

Figura 10.12 Western blot. Proteine separate prin electroforeză

Numiți două boli care pot fi diagnosticate prin Western blot.

lichidul care conține bacterii este forțat printr-o deschidere mică (vezi Figura 18.12, pagina 521). Cea mai simplă metodă detectează prezența bacteriilor prin detectarea diferenței de conductivitate electrică dintre celule și mediul înconjurător. Dacă fluidul care trece prin deschidere este iluminat de un laser, împrăștierea luminii oferă informații despre dimensiunea, forma, densitatea și suprafața celulei, care sunt analizate de un computer. Fluorescența poate fi utilizată pentru a detecta celule fluorescente în mod natural, cum ar fi Pseudomonas, sau celule marcate cu coloranți fluorescenți.

■ Eu:: < <'o fi un vehicul pentru transmiterea bolii. Un test propus ihal folosește citometria în flux pentru a detecta Listeria în lapte ar putea economisi timp, deoarece bacteriile nu ar trebui să fie cultivate pentru

Figura 10.13 Tiparea fagică a unei tulpini de Salmonella enterica.

Tulpina testată a fost crescută pe toată placa. Plăcile sau zonele de liză au fost produse de bacteriofagi, ceea ce indică faptul că tulpina era sensibilă la infecția cu acești fagi. Tiparea fagilor este utilizată pentru a distinge serotipurile de S. enterica și tipurile de Staphylococcus aureus.

1 2 3 4 5 6 7

Figura 10.14 Amprentele ADN. ADN-ul de la șapte bacterii diferite a fost digerat cu aceeași enzimă de restricție. Fiecare digerat a fost pus într-un godeu diferit (de origine) în gelul de agaroză. Un curent electric a fost apoi aplicat gelului pentru a separa fragmentele după dimensiune și sarcină electrică. ADN-ul a fost făcut vizibil prin colorarea cu un colorant care are fluorescență sub lumină ultravioletă. Compararea benzilor arată că probele de ADN (și, prin urmare, bacteriile) din benzile 2 și 3; 4 și 5; iar 1 și 6 sunt identice.

Ce este RFLP?

strâns legate; sunt necesare alte date de susținere pentru a trage concluzii despre relația lor filogenetică.

identificare. Anticorpii împotriva Listeria pot fi marcaţi cu un colorant fluorescent şi adăugaţi în laptele care urmează să fie testat. Laptele este trecut prin citometrul de flux, care înregistrează fluorescenţa celulelor marcate cu anticorpi.

Compoziția bazei ADN

Taxonomiștii pot folosi o compoziție de bază ADN-ului organismului pentru a trage concluzii despre relație. Această compoziție de bază este de obicei exprimată ca procent de guanină plus citozină (G4-C). Compoziția de bază a unei singure specii este teoretic o proprietate fixă; astfel, o comparaţie a conţinutului de G + C la diferite specii poate dezvălui gradul de înrudire dintre specii. După cum am văzut în capitolul 8, fiecare guanină (G) din ADN are o citozină complementară (C). În mod similar, fiecare adenină (A) din ADN are o timină complementară (T). Prin urmare, procentul de baze ADN care sunt perechi GO ne spune și procentul care sunt perechi AT (GO + AT = 100%). Două organisme care sunt strâns înrudite și, prin urmare, au multe gene identice sau similare vor avea cantități similare de diferite baze în ADN-ul lor. Cu toate acestea, dacă există o diferență de peste

10% în procentul lor de perechi GC (de exemplu, dacă ADN-ul unei bacterii conține 40% GC și o altă bacterie are 60% GC), atunci aceste două organisme probabil nu sunt înrudite. Desigur, două organisme care au același procent de GC nu sunt neapărat

Amprenta ADN

Determinarea întregii secvențe de baze din ADN-ul unui organism este în prezent nepractică pentru identificarea de laborator din cauza timpului mare necesar. Cu toate acestea, utilizarea enzimelor de restricție permite cercetătorilor să compare secvențele de bază ale diferitelor organisme. Enzimele de restricție taie o moleculă de ADN oriunde apare o anumită secvență de baze, producând fragmente de restricție (așa cum se discută în Capitolul 9, pagina 247). De exemplu, enzima FcoRI taie ADN-ul de la săgețile din secvență

...G^AATTC...

... CTTA AtG ...

În această tehnică, ADN-ul de la două microorganisme este tratat cu aceeași enzimă de restricție, iar fragmentele de restricție (RFLP) produse sunt separate prin electroforeză producând o amprentă ADN (vezi Figura 9.17, pagina 263). O comparație a numărului și dimensiunilor fragmentelor de restricție care sunt produse de la diferite organisme oferă informații despre asemănările și diferențele lor genetice; cu cât modelele sau amprentele ADN sunt mai asemănătoare, cu atât se așteaptă ca organismele să fie mai strâns legate ^Figura 10.14).

Amprentarea ADN este utilizată pentru a determina sursa infecțiilor dobândite în spital. Într-un spital, pacienții supuși unei intervenții chirurgicale de bypass coronarian au dezvoltat infecții cauzate de Rhodococcus bronhialis (rd-do-kok'kus bron-ke'al-is). Amprentele ADN ale bacteriilor pacienților și ale unei asistente au fost identice. Spitalul a reușit astfel să rupă lanțul de transmitere a acestei infecții încurajând această asistentă să folosească tehnica aseptică.

Acest lucru a condus la interesul pentru găsirea câtorva gene care sunt prezente la toate speciile și oferă o mare variație între specii. Primerii pentru aceste gene ar fi utilizați pentru PCR pentru a produce un cod de bare ADN pentru fiecare specie. Acest lucru a fost propus pentru prima dată în 2003 pentru speciile eucariote, dar cele șase până la nouă gene necesare pentru identificarea bacteriilor nu au fost găsite.

Caz clinic

Serovariile de Salmonella sunt identificate prin serotiparea cu antiseruri împotriva serovariilor izolate anterior. Departamentul de sănătate identifică serovarul; Monica și prietena ei sunt infectate cu bacteria Salmonella Tennessee.

Până acum, departamentul de sănătate a fost inundat de apeluri; Au fost identificate și raportate 27 de cazuri suplimentare de infecție cu Salmonella Tennessee din tot statul Nevada.

Cum poate departamentul de sănătate să stabilească dacă aceste 29 de cazuri sunt legate?

290

Teste de amplificare a acidului nucleic (NAAT)

Atunci când un microorganism nu poate fi cultivat prin metode convenționale, agentul cauzal al unei boli infecțioase ar putea să nu fie recunoscut. Cu toate acestea, testele de amplificare a acidului nucleic (NAAT) pot fi utilizate pentru a crește cantitatea de ADN microbian la niveluri care pot fi testate prin electroforeză pe gel. NAAT-urile utilizează PCR, PCR cu revertranscripție și PCR în timp real (vezi Capitolul 9, pagina 251). Dacă se folosește un primer pentru un anumit microorganism, prezența ADN-ului amplificat indică faptul că microorganismul este prezent.

În 1992, cercetătorii au folosit PCR pentru a determina agentul cauzal al bolii Whipple, care anterior era o bacterie necunoscută acum numită Tropheryma whipplei (tro'fer-e-ma whip'ple-e). Boala lui Whipple a fost descrisă pentru prima dată în 1907 de George Whipple ca o tulburare a sistemului gastrointestinal și nervos cauzată de un bacil necunoscut. Nimeni nu a reușit să cultive bacteria pentru a o identifica și astfel PCR oferă singurele metode fiabile de diagnosticare și tratare a bolii.

În ultimii ani, PCR a făcut posibile mai multe descoperiri. De exemplu, în 1992, Raul Cano a folosit PCR pentru a amplifica ADN-ul din bacteriile Bacillus în chihlimbar care avea o vechime de 25 până la 40 de milioane de ani. Acești primeri au fost făcuți din secvențe de ARNr din B. circulans vii pentru a amplifica ADN-ul care codifică ARNr în chihlimbar. Acești primeri vor provoca amplificarea ADN-ului de la alte specii de Bacillus, dar nu provoacă amplificarea ADN-ului de la alte bacterii care ar fi putut fi prezente, cum ar fi Escherichia sau Pseudomonas. ADN-ul a fost secvențiat după amplificare. Aceste informații au fost folosite pentru a determina relațiile dintre bacteriile antice și bacteriile moderne.

În 1993, microbiologii au identificat un hantavirus ca fiind cauza unui focar de febră hemoragică în sud-vestul american folosind PCR. Identificarea a fost făcută într-un timp record – mai puțin de 2 săptămâni. PCR a fost folosită în 1994 pentru a identifica agentul cauzal al unei noi boli transmise de căpușe (ehrlichioza granulocitară umană) ca bacteria Ehrlichia chaffeensis (erTik-ea chaf'fe-en-sis) (pagina 660). PCR este utilizat pentru a identifica sursa virusurilor rabiei; vezi caseta din Capitolul 22 (pagina 631).

În 2009, oamenii de știință din domeniul sănătății publice au folosit PCR în timp real pentru a identifica o nouă tulpină a virusului gripal H1N1.

Hibridarea acidului nucleic

Dacă o moleculă dublu catenară de ADN este supusă căldurii, catenele complementare se vor separa pe măsură ce legăturile de hidrogen dintre baze se rupe. Dacă catenele simple sunt apoi răcite lent, ele se vor reuni pentru a forma o moleculă dublu catenară identică cu

dubla catena originală. (Această reuniune are loc deoarece catenele simple au secvențe complementare.) Când această tehnică este aplicată la catenele de ADN separate de la două organisme diferite, este posibil să se determine gradul de similitudine dintre secvențele de bază ale celor două organisme. Această metodă este cunoscută sub denumirea de hibridizare a acidului nucleic. Procedura presupune că, dacă două specii sunt similare sau înrudite, o mare parte din secvențele lor de acid nucleic vor fi, de asemenea, similare. Procedura măsoară capacitatea catenelor de ADN dintr-un organism de a hibridiza (se leagă prin împerecherea bazelor complementare) cu catenele de ADN ale altui organism (Figura 10.15). Cu cât este mai mare gradul de hibridizare, cu atât este mai mare gradul de înrudire.

Reacții similare de hibridizare pot apărea între orice lanț de acid nucleic monocatenar: ADN-ADN, ARN-ARN, ADN-ARN. Un transcript de ARN se va hibridiza cu ADN-ul matriță separat pentru a forma o moleculă hibridă ADN-ARN.

■ reacţiile de hibridizare a acidului ucleic stau la baza mai multor tehnici (descrise mai jos) care sunt folosite pentru a detecta prezenţa °* microorganismelor şi pentru a identifica organisme necunoscute.

Southern Blotting

Hibridizarea acidului nucleic poate fi utilizată pentru a identifica microorganisme necunoscute prin Southern blot (vezi Figura 9.16, pagina 262). În plus, sunt dezvoltate metode de identificare rapidă folosind sonde ADN. O metodă implică ruperea ADN-ului extras din Salmonella în fragmente cu o enzimă de restricție, apoi selectarea unui fragment specific ca sondă pentru Salmonella (Figura 10.16). Acest fragment trebuie să poată hibridiza cu

Organism A. ADN

ADN-ul organismului B

Figura 10.15 Hibridarea ADN-ADN. Cu cât este mai mare cantitatea de împerechere între firele de ADN din diferite organisme (hibridare), cu atât organismele sunt mai strâns legate.

Care este principiul implicat în sondele ADN?

Determinați gradul de hibridizare.

Se răcește pentru a permite renaturarea ADN-ului dublu catenar.

Hibridare completă:
organisme identice

Hibridare parțială:
organisme înrudite

organisme neînrudite

Figura 10.16 O sondă ADN utilizată pentru a identifica bacteriile. Southern blot este utilizat pentru a detecta ADN-ul specific. Această modificare a Southern blot este utilizată pentru a detecta Salmonella.

'.j De ce se hibridizează sonda ADN și ADN-ul celular?

Plasmidă

Un fragment de ADN Salmonella este donat în E. coll.

Fragmentele 'jNA clonate sunt marcate cu colorant fluorescent şi separate în catene simple, formând

sonde ADN.

Fragment de ADN Salmonella

Bacteriile necunoscute sunt colectate pe un filtru.

Celulele sunt lizate și ADN-ul este eliberat.

Q ADN-ul este separat în catene simple.

Q Sondele ADN sunt adăugate la ADN-ul de la bacteriile necunoscute.

Sondele ADN hibridizează cu ADN-ul Salmonella din probă. Apoi excesul de sonda este spălat. Fluorescența indică prezența Salmonella.

Sondă fluorescentă

ADN de la alte bacterii

ADN Salmonella

(d) NA marcat se va lega numai de ADN-ul complementar de pe cip. ADN-ul legat va fi detectat de colorantul său fluorescent și analizat de un computer. În această micromatrice a genei de rezistență la antimicrobiene Salmonella, sondele genei de rezistență la antibiotice specifice S. typhimurium sunt verzi, sondele genei de rezistență specifice S. typh/' sunt roșii, iar genele de rezistență la antibiotice găsite în ambele serovari apar galben/portocaliu.

Figura 10.17 Cipul ADN. Acest ADN chio conține sonde pentru genele de rezistență la antibiotice. Este utilizat pentru a detecta bacteriile rezistente la antibiotice în probe colectate de la animale dintr-o fermă sau în unități de abator.

p pentru a-l face specific pentru un anumit micro-

ADN-ul tuturor tulpinilor de Salmonella, dar nu cu ADN-ul bacteriilor enterice strâns înrudite.

cipuri ADN

O nouă tehnologie interesantă este cipul ADN, sau microarray, care poate detecta rapid un agent patogen într-o gazdă sau în mediu prin identificarea unei gene care este unică pentru acel agent patogen (Figura 10.17).

Cipul ADN este compus din sonde ADN. O probă care conține ADN dintr-un organism necunoscut este marcată cu un colorant fluorescent și adăugată la cip. Hibridizarea dintre ADN-ul sondei și ADN-ul din probă este detectată prin fluorescență.

Ribotiparea și secvențierea ARN-ului ribozomal

Ribotiparea este utilizată în prezent pentru a determina relațiile filogenetice dintre organisme. Există mai multe avantaje în utilizarea ARNr. În primul rând, toate celulele conțin ribozomi. În al doilea rând, genele ARN au suferit puține modificări de-a lungul timpului, astfel încât toți membrii unui domeniu, filum și, în unele cazuri, ai unui gen, au aceleași secvențe „semnătură" în ARNr-ul lor. ARNr-ul folosit cel mai des este o componentă a porțiunii mai mici a ribozomilor. Un al treilea avantaj al secvențierii ARNr este că celulele nu trebuie să fie cultivate în laborator.

ADN-ul poate fi amplificat prin PCR utilizând un primer ARNr pentru secvențe de semnătură specifice. Fragmentele amplificate sunt apoi tăiate cu una sau mai multe enzime de restricție și separate prin electroforeză. Modelele de benzi rezultate pot fi apoi comparate. Apoi, genele ARNr din fragmentele amplificate pot fi secvențiate pentru a determina relațiile

evolutive dintre organisme. Această tehnică este utilă pentru clasificarea unui organism nou descoperit în domeniu sau phylum sau pentru a determina tipurile generale de organisme prezente într-un mediu. Cu toate acestea, sunt necesare sonde mai specifice (vezi pagina 255) pentru a identifica speciile individuale.

Hibridizare fluorescentă in situ (FISH)

Sondele ARN sau ADN marcate cu colorant fluorescent sunt utilizate pentru a colora în mod specific microorganismele la locul lor sau in situ. Această tehnică se numește hibridizare fluorescentă in situ sau FISH. Celulele sunt tratate astfel încât sonda să intre în celule și să reacționeze cu ADN-ul țintă din celulă (in situ). FISH este folosit pentru a determina identitatea, abundența și activitatea relativă a microorganismelor într-un mediu și poate fi utilizat pentru a detecta bacteriile care nu au fost încă cultivate. Folosind FISH, o bacterie minusculă, Pelagibacter (pel-aj e-bak-ter), a fost descoperită în ocean și s-a stabilit că este înrudită cu rickettsia (pagina 304). Pe măsură ce sondele sunt dezvoltate, FISH poate fi utilizat pentru a detecta bacterii în băutură sau acteria la un pacient, fără așteptarea normală de 24 de ore sau mai mult necesară pentru cultivarea bacteriilor (Figura 10.18).

Combinarea metodelor de sticlificare Caracteristicile morfologice, colorarea diferenţială şi testarea biochimică au fost singurele instrumente de identificare disponibile • ! ' ''   * cu ani în urmă. Progresele tehnologice sunt făcute

este posibilă utilizarea tehnicilor de analiză a acidului nucleic, odată rezervate clasificării, pentru identificarea de rutină. Informațiile obținute despre microbi sunt folosite pentru identificarea și clasificarea organismelor. Două metode de utilizare a informațiilor sunt descrise pe pagina de față.

Figura 10.18 FISH sau hibridizare fluorescentă in situ. O sondă ADN sau ARN atașată coloranților fluorescenți este utilizată pentru a identifica cbo-nozomii. Bacteriile observate cu microscopia cu contrast de fază (a) sunt identificate cu o sondă marcată cu fluorescentă care hibridizează cu o secvență specifică de ADN în Staphylococcus aureus (b).

Ce se colorează folosind tehnica FISH?

Caz clinic

Izolatele de Salmonella de la fiecare dintre cele 29 de persoane infectate sunt trimise la laboratorul de sănătate publică al statului pentru amprentarea ADN. Amprentele ADN sunt apoi trimise la Centers for Disease Control and Prevention (CDC). La CDC, software-ul de calculator compară fiecare dintre amprentele ADN de Salmonella pentru a determina dacă toate cele 29 de cazuri de Salmonella Tennessee sunt identice. În acest moment, CDC a primit peste 400 de mostre din 20 de state, indicând un potențial focar la nivel național. Mai jos este o figură a amprentei ADN Salmonella a Monicai împreună cu alte mostre de amprentă ADN.

Ce poate concluziona CDC despre focar pe baza acestor amprente ADN?

293

Chei Dihotomice

Cheile dihotomice sunt utilizate pe scară largă pentru identificare. Într-o cheie dihotomică, identificarea se bazează pe întrebări succesive, iar fiecare întrebare are două răspunsuri posibile (dihotomie înseamnă tăiată în două). După ce a răspuns la o întrebare, investigatorul este direcționat către o altă întrebare până când un organism este identificat. Deși aceste chei au adesea puțină legătură cu relațiile filogenetice, ele sunt de neprețuit pentru identificare. De exemplu, o cheie

dihotomică pentru bacterii ar putea începe cu o caracteristică ușor de determinat, cum ar fi forma celulei, și poate trece la capacitatea de a fermenta un zahăr. Cheile dihotomice sunt prezentate în Figura 10.8 și în caseta de la pagina 282. (mm)' Animații Cheile dihotomice: Prezentare generală, Eșantion cu diagramă, practică

Cladograme

Cladogramele sunt hărți care arată relațiile evolutive dintre organisme (dado- înseamnă ramură). Cladogramele sunt prezentate în figurile 10.1 și 10.6. Fiecare punct de ramificație de pe cladogramă este definit de o trăsătură comună de diferite specii de pe acea ramură. Din punct de vedere istoric, cladogramele pentru vertebrate au fost realizate folosind dovezi fosile; cu toate acestea, secvențele de ARNr sunt acum folosite pentru a confirma presupunerile bazate pe fosile. După cum am spus mai devreme, majoritatea microorganismelor nu lasă fosile; prin urmare, secvențierea ARNr este folosită în primul rând pentru a face cladograme pentru microorganisme, subunitatea mică de ARNr utilizată are 1500 de baze, iar programele de calculator fac calculele. Etapele pentru construirea unei cladograme sunt prezentate în Figura 10.19.

0 Două secvențe de ARNr sunt aliniate și

0 se calculează procentul de similitudine dintre secvențe.

® Apoi ramurile orizontale sunt desenate într-o lungime proporțională cu procentul de similaritate calculat. Toate speciile dincolo de un nod (punct de ramificare) au secvențe de ARNr similare, ceea ce sugerează că au apărut dintr-un strămoș la acel nod.

Figura 10.19 Construirea unei cladograme.

Q Determinați secvența bazelor dintr-o moleculă de ARNr pentru fiecare organism. Pentru acest exemplu este prezentată doar o scurtă secvență de baze.

Lactobacillus brevis

L. sanfranciscensis L. acidophilus

L. plantarum

AGUCCAGAGC GUAAAAGAGC AGCGGAGAGC ACGUUAGAGC

De ce se ramifică L. brevis și L. acidophilus din același nod?

Similaritate procentuală

L. brevis —L sanfranciscensis

L. brevis —□ L. acidophilus

L. brevis --+L. plantarum

L. sanfranciscensis —□ /. acidophilus

L. sanfranciscensis —L. plantarum

L. plantarum —□ L. acidophilus

Construiţi o cladogramă. Lungimea liniilor orizontale corespunde valorilor procentuale de similaritate. Fiecare punct de ramificare, sau nod, din cladogramă reprezintă un strămoș comun tuturor speciilor dincolo de acel nod. Fiecare nod este definit de o similaritate în ARNr prezent la toate speciile dincolo de acel punct de ramificare.

Caz clinic rezolvat

La începutul acestui focar, a existat un grup de boală Salmonella Tennessee din cauza consumului de ouă crude. Persoanele bolnave și persoanele neinfectate alese aleatoriu au completat chestionare despre alimentele pe care le-au consumat. Persoanele bolnave au fost semnificativ mai predispuse decât persoanele în stare de sănătate să raporteze că au mâncat aluat crud de prăjituri, care conține ouă nefierte. Cu toate acestea, CDC stabilește în curând că grupul de aluat de prăjituri implică o tulpină diferită de Salmonella tennessee faţă de tulpina implicată în focarul actual. Această tulpină este asociată cu proteina vegetală hidrolizată (HVP), un potențiator de aromă care este utilizat în mod obișnuit într-o varietate de alimente, inclusiv o baie de legume și chipsuri pe care Monica și prietena ei le-au mâncat cu o zi înainte de a se îmbolnăvi. În colaborare cu CDC și Administrația SUA pentru Alimente și Medicamente, producătorul reamintește acel lot special de HVP. Monica și prietena ei își revin complet după câteva zile.

■În cursarea infecţiilor cu Salmonella până la sursa lor este esenţială, deoarece Salmonella poate fi transmisă printr-o varietate de alimente. Se estimează că provoacă 1,4 milioane de îmbolnăviri și 400 de decese anual în Statele Unite.

Amprentarea ADN este utilizată în prezent la nivel mondial de laboratoarele de sănătate publică pentru a face distincția între tulpinile de Salmonella. NAAT-urile sunt foarte sensibile și specifice, dar ar trebui să fie fabricați primeri sau sonde pentru fiecare tulpină. Amprentarea ADN-ului poate detecta, de asemenea, tulpini, deoarece RFLP-urile sunt făcute din întregul genom, mai degrabă decât din amplificarea câtorva secvențe de nucleotide.

294

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Ce este în manualul lui Bergey? 10-13

.-efectuează un test rapid pentru un Staphylococcus aureus. (Sugestie: vezi Figura 6.10, pagina 166.) 10-14

Ce este testat în Western blot și Southern blot? 10-15

Ce se identifică prin tiparea fagilor? 10-16

De ce identifică PCR un microb? 10-17

I Ce tehnici implică hibridizarea acidului nucleic? 10-18***

Este folosită o cladogramă pentru identificare sau clasificare? 10-12,10-19

||||Contur de studiu

MasteringwiCRO BIOLOGIE

Testați-vă înțelegerea cu chestionare, examinare microbiană și un post-test de capitol la www.masteringmicrobiology.com.

Introducere (pag. 272)

. axonomia este știința clasificării organismelor. Scopul său este de a arăta relațiile dintre organisme.

.. Taxonomia oferă, de asemenea, un mijloc de identificare a organismelor.

Studiul filogeneticii

Relații (p. 273-277)

Phy logeny este istoria evolutivă a unui grup de organisme.

Ierarhia taxonomică arată relații evolutive sau filogenetice între organisme.

Bacteriile au fost separate în Regatul Prokaryotae în 1968.

Organismele vii au fost împărțite în cinci regate în 1969.

Cele trei domenii (p. 273-275)

Organismele vii sunt în prezent clasificate în trei domenii.

Un domeniu poate fi împărțit în regate.

În acest sistem, plantele, animalele și ciupercile aparțin domeniului Eukarya.

Bacteriile (cu peptidoglican) formează un al doilea domeniu.

Arheile (cu pereții celulari neobișnuiți) sunt plasate în Domeniul Archaea.

O ierarhie filogenetică (p. 275-277)

Organismele sunt grupate în taxoni în funcție de relații filogenetice (de la un strămoș comun).

Unele dintre informațiile pentru relațiile eucariote sunt obținute din înregistrarea fosilelor.

Relațiile procariote sunt determinate prin secvențierea ARNr.

Clasificarea organismelor (p. 277-281)

Nomenclatura științifică (p. 278)

Conform nomenclaturii științifice, fiecărui organism i se atribuie două nume sau un binom: un gen și un epitet specific sau specie.

Regulile de atribuire a numelor bacteriilor sunt stabilite de Comitetul Internațional pentru Sistematica Procariotelor.

Regulile pentru denumirea ciupercilor și algelor sunt publicate în Codul internațional de nomenclatură botanică.

Regulile pentru denumirea protozoarelor se găsesc în Codul Internațional de Nomenclatură Zoologică.

Ierarhia taxonomică (p. 278)

O specie eucariotă este un grup de organisme care se încrucișează între ele, dar nu se înmulțesc cu indivizii unei alte specii.

Speciile similare sunt grupate într-un gen; genurile similare sunt grupate într-o familie; familii, într-o ordine; comenzi, într-o clasă; clase, într-un filum; phyla, într-un regat; și regate, într-un domeniu.

Clasificarea procariotelor (pp. 278-280)

Manualul de bacteriologie sistematică al lui Bergey este referința standard pentru clasificarea bacteriilor.

Un grup de bacterii derivate dintr-o singură celulă se numește tulpină.

Tulpinile strâns înrudite constituie o specie bacteriană.

Clasificarea eucariotelor (pp. 280-281)

Organismele eucariote pot fi clasificate în Regatul Fungi, Plantae sau Animalia.

Protistii sunt in mare parte organisme unicelulare; aceste organisme sunt în prezent repartizate în regate.

Ciupercile sunt chimioheterotrofe absorbante care se dezvoltă din spori.

Fotoautotrofele multicelulare sunt plasate în Regatul Plantae.

Heterotrofele ingestive multicelulare sunt clasificate ca Animalia.

Clasificarea virușilor (pag. 281)

Virușii nu sunt plasați într-un regat. Ele nu sunt compuse din celule și nu pot crește fără o celulă gazdă.

O specie virală este o populație de viruși cu caracteristici similare care ocupă o anumită nișă ecologică.

Metode de sticlare și identificare a microorganismelor (p. 281-294)

Manualul lui Bergey de bacteriologie determinativă este referința standard pentru identificarea de laborator a bacteriilor.

Caracteristicile morfologice sunt utile în identificarea microorganismelor, în special atunci când sunt ajutate de tehnici de colorare diferențială.

Prezența diferitelor enzime, determinată prin teste biochimice, este utilizată în identificarea bacteriilor și a drojdiilor.

Testele serologice, care implică reacțiile microorganismelor cu anticorpi specifici, sunt utile în determinarea identității tulpinilor și speciilor, precum și a relațiilor dintre organisme. ELISA și Western blot sunt exemple de teste serologice.

Tiparea fagilor este identificarea speciilor și tulpinilor bacteriene prin determinarea susceptibilității acestora la diferiți fagi.

Profilele acizilor grași pot fi folosite pentru a identifica unele organisme.

Citometria în flux măsoară caracteristicile fizice și chimice ale celulelor.

Procentul de perechi de baze GC din acidul nucleic al celulelor poate fi utilizat în clasificarea organismelor.

Numărul și dimensiunile fragmentelor de ADN sau amprentele ADN produse de enzimele de restricție sunt utilizate pentru a determina asemănările genetice.

NAAT-urile pot fi utilizate pentru a amplifica o cantitate mică de ADN microbian dintr-o probă. Prezența sau identificarea unui organism este indicată de ADN amplificat.

Catenele simple de ADN, sau de ADN și ARN, de la organismele înrudite se vor lega de hidrogen pentru a forma o moleculă dublu catenară; această legătură se numește hibridizare a acidului nucleic.

Southern blotting, cipurile ADN și FISH sunt exemple de tehnici de hibridizare a acidului nucleic.

Secvența de baze din ARN-ul ribozomal poate fi utilizată în clasificarea organismelor.

Cheile dihotomice sunt folosite pentru identificarea organismelor. Cladogramele arată relații filogenetice între organisme.

Răspunsurile la întrebările de revizuire și alegere multiplă pot fi găsite accesând fila Răspunsuri din spatele manualului.

Recenzie

Utilizați informațiile suplimentare de mai jos pentru a construi o cladogramă pentru unele dintre organismele utilizate la întrebarea 4. Care este scopul unei cladograme? Cum diferă cladograma ta de o cheie dihotomică pentru aceste organisme?

Care dintre următoarele organisme sunt cele mai strâns legate? Sunt două aceleași specii? Pe ce te-ai bazat raspunsul?

I 1 1 i 1 i

Folosiți cheia din caseta Aplicații ale microbiologiei

la pagina 282 pentru a identifica bagheta gram-negativă care provoacă pneumonie la o vidră de mare. Este VP negativ, indol-negativ și urază-pozitiv.

Alegere Multiplă

Manualul lui Bergey de bacteriologie sistematică diferă de Manualul Bergey de bacteriologie determinativă prin faptul că primul

grupează bacteriile în specii.

grupează bacteriile după relații filogenetice.

grupează bacteriile după proprietăți patogene.

grupează bacteriile în 19 specii.

toate cele de mai sus

Bacil și Lactobacillus nu sunt în aceeași ordine. Aceasta indică faptul că care dintre următoarele nu este suficientă pentru a atribui un organism unui taxon?

caracteristici biochimice

secvențierea aminoacizilor

tipărirea fagilor

serologie'

caracteristici morfologice

Care dintre următoarele este folosită pentru a clasifica organismele în Regatul Fungi?

capacitatea de a fotosintetiza; posedă un perete celular

unicelular; posedă perete celular; procariotă

unicelular; lipsa peretelui celular; eucariote

absorbant; posedă perete celular; eucariote

ingestiv; lipsa peretelui celular; multicelular; procariotă

Care dintre următoarele este falsă referitor la nomenclatura științifică?

Fiecare nume este specific.

Numele variază în funcție de locația geografică.

Denumirile sunt standardizate.

Fiecare nume este format dintr-un gen și un epitet specific.

A fost proiectat pentru prima dată de Linnaeus.

Puteți identifica o bacterie necunoscută prin toate următoarele, cu excepția

hibridizarea unei sonde ADN dintr-o bacterie cunoscută cu ADN-ul necunoscutului.

realizarea unui profil de acizi grași a necunoscutului.

antiser specific aglutinând necunoscutul.

secvențierea ARN ribozomal.

procent de guanina + citozina.

Micoplasmele fără perete sunt considerate a fi legate de bacterii gram-pozitive. Care dintre următoarele ar oferi cele mai convingătoare dovezi în acest sens?

Împărtășesc secvențe de ARNr comune.

Unele bacterii gram-pozitive și unele micoplasme produc catalază.

Ambele grupuri sunt procariote.

Unele bacterii gram-pozitive și unele micoplasme au celule în formă de coc.

Ambele grupuri conțin agenți patogeni umani.

Utilizați următoarele opțiuni pentru a răspunde la întrebările 7 și 8.

Animalia

ciuperci

Plantae

Firmicutes (bacterii gram-pozitive)

Proteobacterii (bacterii gram-negative)

În ce grup ați plasa un organism multicelular care are o gură și trăiește în interiorul ficatului uman?

În ce grup ați plasa un organism fotosintetic care nu are nucleu și are un perete subțire de peptidoglican înconjurat de o membrană exterioară?

Utilizați următoarele opțiuni pentru a răspunde la întrebările 9 și 10.

9 + 2 flagele

ribozom 70S

fimbria

nucleu

peptidoglican

membrana plasmatica

Care se găsesc (sunt) în toate cele trei domenii?

2,6

5

2,4,6,

1,3,5

toți șase

Care se găsesc (se găsesc) numai la procariote?

1,4,6

3,5

1,2

4

2,4,5

Gândire critică

Conținutul de GC al Micrococcus este de 66-75 moli %, iar al Staphylococcus, 30-40 moli %. Conform acestor informații, ați concluziona că aceste două genuri sunt strâns legate?

Descrieți utilizarea unei sonde ADN și a PCR pentru:

identificarea rapidă a unei necunoscute.bacterie.

determinând care dintr-un grup de bacterii sunt cele mai strâns legate.

Mediul SF este un mediu selectiv, dezvoltat în anii 1940, pentru a testa contaminarea cu fecale a laptelui și apei. Doar anumiți coci gram-pozitivi pot crește în acest mediu. De ce se numește SF? Folosind acest mediu, ce gen veți cultiva? (Sugestie: Consultați pagina 278.)

Aplicații clinice

1. Un medic veterinar în vârstă de 55 de ani a fost internat într-un spital cu antecedente de 2 zile de febră, dureri în piept și tuse. În spută i-au fost detectați coci Gram pozitivi și a fost tratat pentru pneumonie lobară cu penicilină. A doua zi, o altă colorare Gram a sputei sale a scos la iveală baghete gram-negative și a fost trecut la ampicilină și gentamicină. O cultură de spută a evidențiat tije gram-negative inactive biochimic identificate ca Pantoea (Enterobacter) aglomerans. După colorarea cu anticorpi fluorescenți și tiparea fagilor, Yersinia pestis a fost identificat în sputa și sângele pacientului și au fost administrate cloramfenicol și tetraciclină. Pacientul a murit la 3 zile de la internarea în spital. Tetraciclina a fost administrată celor 220 de

persoane de contact (personalul spitalului, familie și colegi de muncă). Ce boala a avut pacientul? Discutați ce a mers prost în diagnostic și cum ar fi putut fi prevenită moartea lui. De ce au fost tratate celelalte 220 de persoane? (Sugestie: Consultați capitolul 23.)

O fetiță de 6 ani a fost internată la spital cu endocardită. Hemoculturile au arătat o tijă aerobă gram-pozitivă identificată de laboratorul spitalului drept Corynebacterium xerosis. Fata a murit după 6 săptămâni de tratament cu penicilină intravenoasă și cloramfenicol. Bacteria a fost testată de un alt laborator și identificată ca C. diphtheriae. Următoarele rezultate ale testelor au fost obținute de fiecare laborator:

Laboratorul spitalului **Alt laborator**

producerea de toxine

Oferiți o posibilă explicație pentru identificarea incorectă. Care sunt potențialele consecințe asupra sănătății publice ale identificării greșite a C. diphtheriae1? (Sugestie: Consultați capitolul 24.)

Folosind următoarele informații, creați o cheie dihotomică pentru a distinge aceste organisme unicelulare. Care cauzează bolile umane?

Mitocondriile? Clorofilă?

Tipul nutrițional?

Mobil?

U

GG

U

G

U

17 **18** **19** **20**

U

G

G

C

G

O

O

U

CAGA

O

C

C

G

C

O'

Procariotele:

Domeniile Bacterie și Archaea

W

Când biologii au întâlnit pentru prima dată bacterii microscopice, au fost nedumeriți cum să le clasifice. Bacteriile nu erau în mod clar animale sau plante înrădăcinate. Încercările de a construi un sistem taxonomic pentru bacterii bazat pe sistemul filogenetic dezvoltat pentru plante și animale au eșuat (vezi pagina 273). În edițiile anterioare ale Manualului lui Bergey, bacteriile au fost grupate după morfologie (tijă, cocus), reacții de colorare, prezență de endospori și alte caracteristici evidente. Deși acest sistem a avut utilizări practice, a avut și multe limitări, oarecum ca gruparea liliecilor și păsărilor împreună pe baza faptului că au aripi. Cunoștințele bacteriilor la nivel molecular s-au extins acum într-o asemenea măsură încât este posibil să se bazeze cea mai recentă ediție a Manualului lui Bergey pe un sistem filogenetic. De exemplu, genurile Rickettsia și Chlamydia nu mai sunt grupate împreună după cerința lor comună de creștere intracelulară. Membrii genului Chlamydia se găsesc acum într-un filum numit Chlamydia, dar rickettsiile sunt acum grupate într-un filum îndepărtat, Proteobacteria, din clasa Alphaproteobacteria. Unii microbiologi consideră astfel de schimbări supărătoare, dar reflectă diferențe importante. Aceste diferențe sunt în principal în ARN-ul ribozomal (ARNr) al microbilor, o componentă genetică care se schimbă lent (vezi pagina 292) și îndeplinește aceleași funcții în toate organismele.

Bacteriile patogene izolate de la pacienți, cum ar fi Streptococcus agalactiae prezentat în fotografie, trebuie identificate rapid. Identificarea de laborator a speciilor bacteriene începe de obicei cu colorarea Gram și morfologie. Identificarea acestei bacterii este discutată în Cazul Clinic.

Grupurile procariote

În cea de-a doua ediție a Manualului Bergeys, procariotele sunt grupate în două domenii, Archaea și Bacteria. Ambele domenii constau din celule procariote. Scriși fără majuscule, adică arhee și bacterii, acești termeni denotă organisme care se încadrează în aceste domenii. Fiecare domeniu este împărțit în phyla, fiecare phylum în clase și așa mai departe. Filacele discutate în acest capitol sunt rezumate în Tabelul 11.1 (vezi și Anexa F).

eu

Caz clinic: Mila

Sheree Walker, neonatolog la un spital local, o verifică pe Mercy, o fetiță în vârstă de 48 de ore. Mercy a născut în mod normal la 39 de săptămâni și a dat toate indicațiile că este un copil sănătos. În ultimele 2 zile, însă, a luat o întorsătură proastă și este internată la neonatal

unitatea de terapie intensivă (NICU). Mercy este moale, are dificultăți de respirație și are o temperatură corporală de 35°C; dar plămânii îi sunt curați, iar examenul cardiac este normal. Dr. Walker vorbește cu mama lui Mercy, care confirmă că a primit îngrijiri prenatale adecvate și nu are alte probleme medicale. Dr. Walker ordonă lui Mercy o puncție lombară pentru a-și verifica lichidul cefalorahidian (LCR) pentru o posibilă infecție. Raportul din laborator arată sânge în LCR al lui Mercy. Dr. Walker îl diagnostichează pe Mercy cu meningită și apoi comandă o cultură venoasă a sângelui pentru a verifica dacă există bacterii. .

Ce bacterii ar putea fi cauza meningitei lui Mercy? Citiți mai departe pentru a afla.

MASĂ*! 1 procariote selectate din Manualul lui Bergey de bacteriologie sistemică, ediția a doua*

Comandă	**Phylum**	**Caracteristici speciale ale genurilor importante**

Clasă

DOMENIU BACTERII

Proteobacterii

Vezi Anexa F pentru o listă taxonomică con o'ete." 1 Acest tabel include procariotele menționate în acest text. Descrierile și irh înseamnă că această trăsătură este comună în gen, dar nu că toți membrii genului au această trăsătură.

Helicobacter *Agenți patogeni umani, cancerigeni*

Firmicutes (bacteriile cu G + C Gram-pozitive scăzute)

Bacteriile din ordinul Mycoplasmatales sunt înrudite genetic cu bacteriile gram-pozitive G4-C scăzute, dar le lipsește un perete celular și se colorează gram-negative.

(continuare)

TABELUL 1 Procariote selectate Si din Manualul lui Bergey de bacteriologie sistemică, a doua editie

Streptobacillus Un agent patogen uman

Bacteriile fotosintetice violet și verzi (bacteriile fotosintetice anoxigenice)

Euryarchaeota (Gram-pozitiv la variabil)

■^DOMENIUL BACTERII

Cei mai mulți dintre noi considerăm bacteriile ca fiind niște creaturi invizibile, potențial dăunătoare. De fapt, relativ puține specii de bacterii provoacă boli la oameni, animale, plante sau orice alte organisme. Odată ce ai terminat un curs de microbiologie, îți vei da seama că fără bacterii, o mare parte din lite așa cum știm noi nu ar fi posibilă. În acest capitol, veți afla cum se diferențiază grupurile bacteriene unele de altele și cât de importante sunt bacteriile în lumea microbiologiei Discuția noastră din acest capitol pune în evidență bacteriile considerate a fi de importanță practică, cele care sunt importante în medicină sau cele care ilustrează principii neobișnuite sau interesante din punct de vedere biologic.

Obiectivele de învățare și întrebările Verificați înțelegerea din acest capitol vă vor ajuta să vă familiarizați cu aceste organisme și să căutați asemănări și diferențe între organisme. Veți desena o cheie dihotomică pentru a diferenția bacteriile descrise în fiecare grup.

el Proteobacterii

OBIECTIVE DE ÎNVĂȚARE

11-1 Diferențiați alfaproteobacterii descrise în acest capitol prin desenarea unei chei dihotomice.

11-2 I Mdiferențiază betaproteobacteria descrisă în acest capitol prin desenarea unei chei dihotomice.

11-3 Diferențiați gamaproteobacteria descrisă în acest capitol prin desenarea unei chei dihotomice.

11-4 Diferențiați deltaproteobacterii descrise în acest capitol prin desenarea unei chei dihotomice.

11-5 Diferențiați epsilonproteobacteria descrisă în acest capitol prin desenarea unei chei dihotomice.

Am desenat prima dintre aceste chei dihotomice (pentru alfaproteobacterii) ca exemplu.

Cauza boli la oameni

Parazit intracelular obligatoriu

Trăiește în insecte

Wolbachia Au proteze

Supraviețuiește în Jx \-

fagoc} tes (jauioyaCfer & Chemoautotrophic Hyphomicrobiurn

Brucella Bartonella

Rickettsia Ehrlichia

Provoacă febră pete

Patogenul plantelor Nitrobacter

Agrobacterium Fix azot

În leguminoase Acetobacter și rădăcini Gluconobacter

Proteobacteria, care include majoritatea bacteriilor gram-negative, chemoheterotrofe, se presupune că au apărut dintr-un strămoș fotosintetic comun. Acum sunt cel mai mare grup taxonomic de bacterii. Cu toate acestea, puțini sunt acum fotosintetici; alte capacități metabolice și nutriționale au apărut pentru a înlocui această caracteristică. Relația filogenetică în aceste grupuri se bazează pe studiile ARNr. Numele Proteobacteria a fost luat de la zeul mitologic grec Proteus, care putea lua multe forme. Proteobacterii sunt separate în cinci clase desemnate prin litere grecești: alfaproteobacteria, betaproteobacteria, gamaproteobacteria, deltaproteobacteria și epsilonproteobacteria.

Alfaproteobacteria

Ca grup, alfaproteobacteria include majoritatea proteobacteriilor care sunt capabile să crească la niveluri foarte scăzute de nutrienți. Unele au o morfologie neobișnuită, inclusiv proeminențe precum tulpini sau muguri cunoscuți sub numele de prosthecae. Alfaproteobacterii includ, de asemenea, bacterii importante din punct de vedere agricol, capabile să inducă fixarea azotului în simbioză cu plantele și câțiva agenți patogeni vegetali și umani.

Pelagibacter Unul dintre cele mai abundente microorganisme de pe Pământ, cu siguranță în mediul oceanic, este Pelagibacter ubique (pel-aj'e-bak-ter u'bek). Este membru al unui grup de microbi marini descoperiți prin utilizarea tehnicii FISH (vezi pagina 292) și numit SAR11 datorită descoperirii lor originale în Marea Sargasso. P. ubique este primul membru al acestui grup care a fost cultivat cu succes. Genomul său a fost secvențial și s-a constatat că are doar 1354 de gene. Acest număr este foarte scăzut pentru un organism care trăiește liber, deși mai multe micoplasme (vezi pagina 317) au și mai puține gene. Bacteriile aflate într-o relație simbiotică au cerințe metabolice mai mici și au cei mai mici genomi (vezi pagina 327). Bacteria este extrem de mică, cu puțin peste 0,3 pm diametru. Dimensiunea sa mică și genomul minim îi conferă probabil un avantaj competitiv pentru supraviețuirea în medii cu conținut scăzut de nutrienți. De fapt, pare a fi cel mai abundent organism viu (parte a numelui său, ubique, este derivat din omniprezent), pe baza greutății, în oceane, unde numărul său absolut trebuie să îi confere un rol important în ciclul carbonului Pământului.

Azospirillum Microbiologii agricoli au fost interesați de membrii genului Azospirillum (â-zo-spî'ril-lum), o bacterie a solului care crește în strânsă asociere cu rădăcinile multor plante, în special ierburile tropicale. Utilizează nutrienții excretați de plante și, în schimb, fixează azotul din atmosferă. Această formă de fixare a azotului este cea mai semnificativă la unele ierburi tropicale și la trestia de zahăr, deși organismul poate fi izolat de sistemul radicular al multor clime temperate.

Rhizobia Azospirillum

celula gazda

Nucleu

Rickettsii împrăștiate

Plafonul embrionului de pui

Mase de rickettsii în . nucleu

Figura 11.1 Rickettsias.

(b) Rickettsias cresc numai într-o celulă gazdă, cum ar fi celula de embrion de pui prezentată aici. Observați rickettsiile împrăștiate în interiorul celulei și masele compacte de rickettsii din nucleul celulei.

LM

Cum se transmit rickettsiile de la o gazdă la alta?

plante, cum ar fi porumbul. Prefixul azo- este frecvent întâlnit în genurile de bacterii fixatoare de azot. Este derivat din a (fără) și zo (viață), cu referire la primele zile ale chimiei când oxigenul era îndepărtat, printr-o lumânare aprinsă, dintr-o atmosferă experimentală. Probabil că a rămas în mare parte azotul și s-a constatat că viața mamiferelor nu este posibilă în această atmosferă. Prin urmare, azotul a ajuns să fie asociat cu absența vieții.

Acetobacter și Gluconobacter Acetobacter (a'se-to-bak-ter) și Gluconobacter (glii'kon-o -bak-ter) sunt organisme aerobe importante din punct de vedere industrial care transformă etanolul în acid acetic (oțet).

Rickettsia În edițiile anterioare ale Manualului lui Bergey, genurile Rickettsia, Coxiella și Chlamydia au fost grupate îndeaproape, deoarece împărtășesc caracteristica comună de a fi paraziți intracelulari obligați - adică se reproduc numai într-o celulă de mamifer. În a doua ediție, acestea sunt acum larg separate. O comparație între rickettsias, chlamydias și virusuri apare în Tabelul 13.1, pagina 370.

Rickettsias sunt bacterii gram-negative în formă de baston sau cocobacili (Figura 11.1a). O trăsătură distinctivă a majorității rickettsias este că acestea sunt transmise la om prin mușcături de insecte și căpușe, spre deosebire de Coxiella (discută mai târziu cu gamaproteobacteria). Rickettsia intră în celula gazdă prin inducerea fagocitozei, intră rapid în citoplasma celulei și încep să se reproducă prin fisiune binară (Figura 11.1 b). De obicei, pot fi cultivate artificial în cultură celulară sau embrioni de pui (Capitolul 13, paginile 380-381).

Rickettsias sunt responsabile pentru o serie de boli cunoscute sub numele de grupul febrei pete. Acestea includ tifosul epidemic, cauzat de Rickettsia prowazekii (ri-ket'se-a prou-wa-ze'ke-e) și transmis prin păduchi (pagina 363); tifos murin endemic, cauzat de R. typhi (ti'fe) și transmis de puricii de șobolan; și febra petale din Munții Stâncoși, cauzată de R. rickettsii (ri-ket'se-e) și transmisă de căpușe (pagina 363). La om, infecțiile rickettsiale afectează permeabilitatea capilarelor sanguine, ceea ce are ca rezultat o erupție cutanată caracteristică.

Ehrlichia Ehrlichiae sunt bacterii gram-negative, asemănătoare rickettziei, care trăiesc în mod obligatoriu în celulele albe din sânge. Speciile Ehrlichia (er'lik-ea) sunt transmise oamenilor prin căpușe și provoacă ehrlichioza, o boală uneori fatală (pagina 660).

Caulobacter și Hyphomicrobium Membrii genului Caulobacter (ko-16-bak'ter) se găsesc în medii acvatice cu conținut scăzut de nutrienți, cum ar fi lacurile, „au tulpini care ancorează organismele de suprafețe (Figura 11.2). Acest aranjament mărește absorbția lor de nutrienți deoarece sunt expuși unui flux de apă în continuă schimbare și deoarece tulpina crește raportul suprafață-volum al celulei. De asemenea, dacă suprafața pe care se ancorează este o gazdă vie, aceste bacterii pot folosi . adică hos. s excrețiile sub formă de nutrienți. Când concentrația de nutrienți este excepțional de scăzută, dimensiunea tulpinii crește, evident pentru a oferi o suprafață și mai mare pentru absorbția nutrienților.

Bacteriile în devenire nu se împart prin fisiune binară în două

■ -celule dentare. Procesul de înmugurire seamănă cu procesele de reproducere asexuată ale multor drojdii (Figura 12.3, pagina 333. . Celula părinte își păstrează identitatea în timp ce mugurele își slăbește dimensiunea până când se separă ca o celulă complet nouă. Un exemplu este genul Hyphomicrobium (hi-fo-mi-kro'be-um), așa cum se găsește în figură. în medii acvatice cu conținut scăzut de nutrienți și chiar au fost găsite în creștere în băi de apă de laborator Atât Caulobacter, cât și Hyphomicrobium produc prosthecae proeminente.

Rhizobium, Bradyrhizobium și Agrobacterium Rhizobium (ri zo be-um) și Bradyrhizobium (brâd-e-rî-zo'be-um) sunt două dintre cele mai importante genuri ale unui grup de importante din punct de vedere agricol.

(o)

Care este avantajul competitiv oferit de atașarea la o suprafață?

bacterii care infectează în mod specific rădăcinile plantelor leguminoase, cum ar fi fasolea, mazărea sau trifoiul. Pentru simplitate, aceste bacterii sunt cunoscute sub numele comun de rizobie. Prezența rizobiilor în rădăcini duce la formarea de noduli în care rizobiile și planta formează o relație simbiotică, rezultând fixarea azotului din aer pentru utilizare de către plantă (vezi Figura 27.5 la pagina 778).

La fel ca rizobiile, genul Agrobacterium (ag'ro-bak-ti're-um) are capacitatea de a invada plantele. Cu toate acestea, aceste bacterii nu induc noduli radiculari și nici nu fixează azotul. De interes deosebit este Agrobacterium tumefaciens. Acesta este un agent patogen al plantelor care provoacă o boală numită fiere a coroanei; coroana este zona plantei unde rădăcinile și tulpina se îmbină. Fiera asemănătoare tumorii este indusă atunci când A. tumefaciens introduce o plasmidă care conține informații genetice bacteriene în ADN-ul cromozomial al plantei (vezi Figura 9.19, pagina 264). Din acest motiv, geneticienii microbieni sunt foarte interesați de acest organism. Plasmidele sunt cel mai comun vector pe care oamenii de știință îl folosesc pentru a transporta noi gene într-o celulă, iar peretele gros al plantelor este deosebit de dificil de pătruns (vezi Figura 9.20, pagina 264).

Majoritatea bacteriilor nu se reproduc prin înmugurire; ce metoda folosesc?

Bartonella Genul Bartonella (bar'to-nel-la) conține mai mulți membri care sunt agenți patogeni umani. Cel mai cunoscut este Bartonella henselae, un bacil gram negativ care provoacă boala zgârieturii de pisică (pagina 653).

Brucella Bacteriile Brucella (brii'sel-la) sunt mici cocobacili nemotile. Toate speciile de Brucella sunt paraziți obligatorii ai mamiferelor și provoacă boala bruceloză (pagina 649). De interes medical este capacitatea Brucella de a supraviețui fagocitozei, un element important al apărării organismului împotriva bacteriilor (vezi capitolul 16, pagina 460).

Nitrobacter și Nitrosomonas Nitrobacter (ni-tro-bak'ter) și Nitrosomonas (m-tro-so-mo'nas) sunt genuri de bacterii nitrificatoare care sunt de mare importanță pentru mediu și agricultură. Sunt chimioautotrofe capabile să folosească substanțe chimice anorganice ca surse de energie și dioxid de carbon ca singura sursă de carbon, din care sintetizează întreaga lor compoziție chimică complexă. Sursele de energie ale genurilor Nitrobacter și Nitrosomonas (cel din urmă este un membru al betaproteobacterii) sunt compuși cu azot redus. Speciile Nitrobacter oxidează amoniul (NH/) în nitriți (NO2“), care este la rândul său oxidat de speciile Nitrosomonas în nitrați (NO3“) în procesul de nitrificare. Nitrații sunt importanți pentru agricultură; este o formă de azot care este foarte mobilă în sol și, prin urmare, este probabil să fie întâlnită și utilizată de plante.

Figura 11.4 Spirillum volutans. Aceste bacterii elicoidale mari se găsesc în mediile acvatice. Observați flagelul polar.

Această bacterie este mobilă? Cum poți să spui?

■ rolbachia Wolbachia (wol-ba'ke-a) este probabil cel mai comun gen de bacterii infecțioase din lume. Chiar și așa, se știe puțin despre Wolbachia; trăiesc numai în interiorul celulelor gazdelor lor, de obicei insecte (o relație cunoscută sub numele de endosimbioză). Prin urmare, Wolbachia scapă de detectare prin metodele obișnuite de cultură. Acest grup fascinant de bacterii este descris în continuare în caseta de la pagina 308.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Faceți o cheie dihotomică pentru a distinge alfaproteobacteria descrisă în acest capitol. (Sugestie: Vezi pagina 303 pentru un exemplu completat.) 11-1

Betaproteobacteria

Există o suprapunere considerabilă între betaproteobacterii și alfaproteobacterii, de exemplu, printre bacteriile nitrificatoare discutate mai devreme. Betaproteobacterii folosesc adesea substanțe nutritive care difuzează departe de zonele de descompunere

anaerobă a materiei organice, cum ar fi hidrogenul gazos, amoniacul și metanul. În acest grup se găsesc mai multe bacterii patogene importante.

Thiobacillus Speciile de Thiobacillus (thi-d-ba-sil'lus) și alte bacterii oxidante ale sulfului sunt importante în ciclul sulfului (vezi Figura 27..-. pag. 780). Aceste bacterii chimioautotrofe sunt capabile să obțină energie prin oxidarea formelor reduse de sulf, cum ar fi hidrogenul sulfurat (H2S) sau sulful elementar (S°), în sulfați (SO42-).

Spirillum Habitatul genului Spirillum (spi-ril'lum) este în principal apă dulce. O diferență morfologică importantă față de spirochetele elicoidale (discutate la pagina 325) este că Spirillum

Figura 11.5 Sphaerotilus natans. Aceste bacterii învelite se găsesc în ape uzate diluate și în mediile acvatice. Ele formează teci alungite în care trăiesc bacteriile. Bacteriile au flageli (nu sunt vizibile aici) și în cele din urmă pot înota eliberate de teacă.

bacteriile sunt mobile prin flageli polari convenționali, mai degrabă decât prin filamentele axiale. Spirilla sunt bacterii aerobe relativ mari, gram-negative. Spirillum volutans (vd-lu-tans) este adesea folosit ca diapozitiv demonstrativ atunci când studenții la microbiologie sunt introduși pentru prima dată în funcționarea microscopului (Figura 11.4).

Bacteriile învelite Sphaerotilus, care includ Sphaerotilus natans (sfe-ră'ti-lus na'tans), se găsesc în apa dulce și în canalizare. Aceste bacterii gram-negative cu flageli polari formează o teacă goală, filamentoasă în care să trăiască (Figura 11.5). Tecile sunt protectoare și ajută, de asemenea, la acumularea de nutrienți. Sphaerotilus contribuie probabil la bulking, o problemă importantă în tratarea apelor uzate (vezi capitolul 27).

Burkholderia Genul Burkholderia a fost grupat anterior cu genul Pseudomonas, care acum este clasificat sub gamaproteobacteria. La fel ca pseudomonadele, aproape toate speciile de Burkholderia sunt mobile printr-un singur flagel polar sau un smoc de flageli. Cea mai cunoscută specie este toiagul aerob, gram negativ Burkholderia cepacia (berk'hold-er-e-ă se-pă'se-ă). Are un spectru nutrițional extraordinar și este capabil să degradeze mai mult de 100 de molecule organice diferite. Această capacitate este adesea un factor de contaminare a echipamentelor și medicamentelor din spitale; aceste bacterii se pot dezvolta de fapt în dezinfectant, 1,1 '" e ;caz ;mic din capitolul 15). Această bacterie

este o problemă și pentru persoanele cu boala pulmonară genetică cy ti< fibroză, în corn metabolizează secrețiile respiratorii acumulate. Burkholderia pseudomallei (sudo-malTe-i) este rezident în soluri umede și este cauza unei boli severe

(melioidoza) endemică în sud-estul Asiei și nordul Australiei (pagina 697).

Bordetella De o importanță deosebită este tija nemotilă, aerobă, gram-negativă Bordetella pertussis (bor'de-tel-la per-tus'sis). Acest agent patogen grav este cauza pertussis sau tuse convulsivă (pagina 687).

Neisseria Bacteriile din genul Neisseria (ni-se're-a) sunt coci aerobi, gram-negativi, care locuiesc de obicei în membranele mucoase ale mamiferelor. Speciile patogene includ bacteria gonococ Neisseria gonorrhoeae (go-nor-re'i), agentul cauzal al gonoreei (pagina 754, Figura 11.6, și caseta din Capitolul 26, pagina 757) și N. meningitidis (men-nin-ji'ti-dis), agentul meningitioscoccal6188.

Zoogloea Genul Zoogloea (zo' o-gle-a) este important în contextul proceselor aerobe de epurare a apelor uzate, cum ar fi sistemul cu nămol activ (vezi Figura 27.21, pagina 793). Pe măsură ce cresc, bacteriile Zoogloea formează mase pufoase, slimoase, care sunt esențiale pentru funcționarea corectă a unor astfel de sisteme.

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Realizați o cheie dihotomică pentru a distinge betaproteobacteria descrisă în acest capitol. 11-2

Gamaproteobacteria

Gammaproteobacterii constituie cel mai mare subgrup de proteobacterii și includ o mare varietate de tipuri fiziologice.

O specie care este utilizată în microbiologia industrială este descrisă în caseta din Capitolul 28 de la pagina 808.

Beggiatoa Beggiatoa alba (bej'je-a-to-a al'ba), singura specie din acest gen neobișnuit, crește în sedimentele acvatice la interfața dintre straturile aerobe și anaerobe. Din punct de vedere morfologic, seamănă cu anumite cianobacterii filamentoase (pagina 320), dar nu este fotosintetică. Motilitatea este prin alunecare. Mecanismul este producerea de slime, care se atașează de suprafața pe care are loc mișcarea și oferă, de asemenea, lubrifiere permițând organismului să alunece.

Din punct de vedere nutrițional, B. alba folosește hidrogen sulfurat (H_2S) ca sursă de energie și acumulează granule interne de sulf. Capacitatea acestui organism de a obține energie dintr-un compus anorganic a fost un actor important în descoperirea metabolismului autotrof.

Francisella Francisella (fran'sis-elTă) este un gen de bacterii mici, pleomorfe, care cresc doar pe medii complexe îmbogățite cu extracte de sânge sau de țesut. Francisella tularensis (tuTăr-en-sis) provoacă boala tularemie. (Vezi caseta din capitolul 23, pagina 651.)

Pseudomonadales

Membrii ordinului Pseudomonadales sunt baghete aerobe gram-negative sau coci. Cel mai important gen din acest grup este Pseudomonas.

Pseudomonas Un gen foarte important, Pseudomonas (su-domo'nas) este format din baghete aerobe gram-negative care sunt mobile de flageli polari, fie simple, fie smocuri (Figura 11.7). Pseudomonadele sunt foarte frecvente în sol și în alte medii naturale.

Multe specii de pseudomonade excretă pigmenți extracelulari, solubili în apă, care difuzează în mediul lor. O specie, Pseudomonas aeruginosa (ă-rii-ji-no'să), produce o pigmentare solubilă, albastru-verde. În anumite condiții, în special la gazdele slăbite, acest organism poate infecta tractul urinar, arsuri și răni și poate provoca infecții ale sângelui (sepsis; pagina 646), abcese și meningită. Alte pseudomonade produc pigmenți fluorescenți solubili care strălucesc atunci când sunt iluminați de lumina ultravioletă. O specie, P. syringae (ser'in-gi), este un agent patogen ocazional al plantelor. (Unele specii de Pseudomonas au fost transferate, pe baza studiilor ARNr, în deria ■ < ■', care a fost discutată anterior cu betaproteobacterii.)

Pseudomonadele au aproape la fel de multă capacitate genetică ca drojdiile eucariote și aproape jumătate decât musca de fructe. Deși aceste bacterii sunt mai puțin eficiente decât alte bacterii heterotrofe în utilizarea multor nutrienți obișnuiți, ele își folosesc capacitatea genetică compensând aceasta în alte moduri. De exemplu, pseudomonadele sintetizează un număr neobișnuit de mare de enzime și pot metaboliza o mare varietate de substraturi. Prin urmare, probabil că ele contribuie în mod semnificativ la descompunerea substanțelor chimice neobișnuite, cum ar fi pesticidele care sunt adăugate în sol. '

În spitale și în alte locuri în care sunt pregătiți agenți farmaceutici, capacitatea pseudomonadelor de a crește în curse minute e. surse neobișnuite de carbon, cum ar fi reziduurile de săpun sau capinc. adezivi găsiți într-o soluție, a fost neașteptat de supărător. Pseudomonadele sunt chiar capabile să crească în unele a. (septice, cum ar fi compușii cuaternari de amoniu. Rezistența lor la majoritatea antibioticelor a fost, de asemenea, o sursă de îngrijorare medicală. 1 Rezistența sa este probabil legată de caracteristicile porinelor peretelui celular, care controlează intrarea moleculelor în peretele celular (vezi capitolul 4, pagina 87). Genomul mare al ps udomonade pompează, de asemenea, mai multe sisteme foarte eficiente, care ejectează mai multe sisteme foarte eficiente care ejectează pentru antibioticele din celulă înainte de a putea funcționa Pseudomonadele sunt

responsabile pentru aproximativ una din zece infecții nosocomiale (infecții dobândite în spital; vezi pagina 414), în special în rândul infecțiilor din unitățile de arsuri.

Deși pseudomonadele sunt clasificate ca aerobe, unele sunt capabile să înlocuiască oxigenul cu nitrat ca acceptor terminal de electroni. Procesul Inis, respirația anaerobă, produce aproape la fel de multă energie ca și respirația aerobă (vezi pagina 130). În acest fel, pseudomonadele provoacă pierderi importante de azot valoros în îngrășământ și sol. Nitratul (NO3) este forma de azot de îngrășământ cel mai ușor utilizat de plante. În condiții anaerobe, ca în solul plin de apă, pseudomonadele transformă în cele din urmă acest valoros nitrat în azot gazos (N2), care se pierde în atmosferă (vezi Figura 27.4, pagina 776).

Multe pseudomonade pot crește la temperaturile frigiderului. Această caracteristică, combinată cu capacitatea lor de a utiliza proteinele și lipidele, le face un contributor important la alterarea alimentelor.

Azotobacter și Azomonas Unele bacterii fixatoare de azot, cum ar fi Azotobacter (a-zo-to-bak'ter) și Azomonas (ă-zo-mo'nas), trăiesc liber în sol. Aceste bacterii mari, ovoide, puternic capsulate sunt utilizate frecvent în demonstrațiile de laborator ale fixării azotului. Cu toate acestea, pentru a fixa cantități semnificative de azot din punct de vedere agricol, ar avea nevoie de surse de energie, cum ar fi carbohidrații, care sunt în aprovizionare limitată în sol.

Moraxella Membrii genului Moraxella (mo-raks-elTa) sunt cocobacili strict aerobi, adică de formă intermediară între coci și bastonașe. Moraxella lacunata (la-kii-na'ta) este implicată în conjunctivită, o inflamație a conjunctivei, membrana care acoperă ochiul și căptușește pleoapele (pagina 609).

Acinetobacter Genul Acinetobacter (a-si-ne'to-bak-ter) este aerob și în preparatele colorate formează de obicei perechi. Bacteriile apar în mod natural în sol și apă. Un membru al acestui gen, Acinetobacter baumanii (bou'man-ee), este o preocupare tot mai mare pentru comunitatea medicală din cauza rapidității cu care devine rezistent la antibiotice. Unele tulpini sunt rezistente la majoritatea antibioticelor disponibile. Nerăspândit încă în Statele Unite, A. baumanii este un agent patogen oportunist găsit în principal într-un cadru spitalicesc. Rezistența la antibiotice a agentului patogen, combinată cu sănătatea slăbită a pacienților infectați din spital, a dus la o rată a mortalității neobișnuit de mare. A. baumanii este în primul rând un agent patogen respirator, dar infectează și pielea și țesuturile moi și rănile și invadează ocazional fluxul sanguin. Este mai rezistentă la mediu decât majoritatea bacteriilor gramnegative și, odată stabilită într-un spital, devine dificil de eliminat.

Legionellale

Genurile Legionella și Coxiella sunt strâns asociate în cea de-a doua ediție a Manualului lui Bergey, unde ambele sunt plasate în aceeași ordine, Legionellales. Deoarece Coxiella împărtășește un stil de viață intracelular cu bacteriile rickettsiale, anterior au fost

considerate de natură rickettsială și grupate cu acestea. Bacteriile Legionella cresc ușor pe medii artificiale adecvate.

.egionella Bacteriile Legionella (le-jă-nelTă) au fost inițial izolate în timpul unei căutări a cauzei unui focar de pneumonie cunoscut acum sub numele de legioneloză (pagina 694). Căutarea a fost dificilă deoarece aceste bacterii nu au crescut pe mediile obișnuite de izolare de laborator disponibile atunci. După eforturi intense, au fost dezvoltate medii speciale care au permis cercetătorilor să izoleze și să cultive prima Legionella. Microbii acestui gen sunt acum cunoscuți a fi relativ obișnuiți în cursuri și colonizează habitate precum liniile de alimentare cu apă caldă în spitale și apă în turnurile de răcire ale sistemelor de aer condiționat. (Vezi caseta din capitolul 24, pagina 698.) Abilitatea de a supraviețui și de a se reproduce în cadrul amibelor acvatice le face adesea dificil de eradicat în sistemele de apă.

Coxiella Coxiella burnetii (kaks-e-elTa ber-ne'te-e), care provoacă febra Q (pag. 696), era anterior grupată cu rickettsia. Ca și ei, bacteriile Coxiella necesită o celulă gazdă de mamifer pentru a se reproduce. Spre deosebire de rickettsia, bacteriile Coxiella nu se transmit printre oameni prin mușcături de insecte sau căpușe. Deși căpușele de vite adăpostesc organismul, acesta este cel mai frecvent transmis prin aerosoli sau lapte contaminat. Un corp asemănător cu spori este prezent la C. burnetii (vezi Figura 24.14b, pagina 696). Acest lucru ar putea explica rezistența relativ mare a bacteriei la stresul transmisiei prin aer și tratamentul termic.

Vibrionales

Membrii ordinului Vibronales sunt baghete gram-negative facultativ anaerobe. Multe sunt ușor curbate. Se găsesc mai ales în habitatele acvatice.

Figura 11.8 Vibrio cholerae. Observați curbura acestor tije, care este o caracteristică a genului.

Vibrio Membrii genului Vibrio (vib're-d) sunt tije care sunt adesea ușor curbate (Figura 11.8). Un agent patogen important este Vibrio cholerae (kol'er-i), agentul cauzator al holerei (pagina 722). Boala se caracterizează printr-o diaree abundentă și apoasă. V. parahaemolyticus (pa-ra-he-mo-li'ti-kus) determină o formă mai puţin gravă de gastroenterită. Locuind de obicei în apele sărate de coastă, este transmisă oamenilor mai ales prin crustacee crude sau insuficient gătite.

Enterobacteriale

Membrii ordinului Enterobacteriales sunt bastonașe anaerobe facultativ, gram-negative, care sunt, dacă sunt mobile, flagelate peritric. Din punct de vedere morfologic, tijele sunt drepte. Acesta este un grup important de bacterii, adesea numite enterice. Acest lucru reflectă faptul că locuiesc în tractul intestinal al oamenilor și al altor animale. Majoritatea entericilor sunt fermentatori activi ai glucozei și a altor carbohidrați.

Datorită importanței clinice a entericilor, există multe tehnici de izolare și identificare a acestora. O metodă de identificare pentru unele enterice este prezentată în Figura 10.9 (pagina 285), care încorporează un instrument modern care utilizează 15 teste biochimice. Testele biochimice sunt deosebit de importante în activitatea de laborator clinic și în microbiologia alimentelor și apei.

Entericele au fimbrie care îi ajută să adere la suprafețe sau membranele mucoase. Piliul sexual specializat ajută la schimbul de informații genetice între celule, care include adesea rezistența la antibiotice (vezi figurile 8.26 și 8.27, paginile 234 și 235).

Entericele, ca multe bacterii, produc proteine numite bacteriocine care cauzează liza unor specii de bacterii strâns înrudite.

Bacteriocinele pot ajuta la menținerea echilibrului ecologic al diferitelor enterice din intestine.

Escherichia Specia bacteriană Escherichia coli este unul dintre cei mai des întâlniți locuitori ai tractului intestinal uman și este probabil cel mai familiar organism în microbiologie. Amintiți-vă din capitolele anterioare că se cunosc multe despre biochimia și genetica E. coli și continuă să fie un instrument important pentru cercetarea biologică de bază - mulți cercetători îl consideră aproape un animal de companie de laborator. Prezența acestuia în apă sau alimente este un indiciu al contaminării cu fecale (vezi capitolul 27, pagina 786). E. coli nu este de obicei patogen. Cu toate acestea, poate fi o cauză a infecțiilor tractului urinar, iar anumite tulpini produc enterotoxine care provoacă diareea călătorilor (pagina 724) și ocazional provoacă boli foarte grave transmise prin alimente (vezi E. coli O157:H7, pagina 724).

Salmonella Aproape toți membrii genului Salmonella (sal'mon-el-la) sunt potențial patogeni. În consecință, există teste biochimice și serologice extinse pentru a izola clinic și a identifica salmonelele. Salmonellae sunt locuitori obișnuiți ai tractului intestinal al multor animale, în special păsările și bovinele. În condiții insalubre, pot contamina alimentele.

Nomenclatura genului Salmonella este neobișnuită. În loc de specii multiple, membrii genului Salmonella care sunt infecțioase pentru animalele cu sânge cald pot fi considerați, în scopuri practice, ca fiind o singură specie, Salmonella enterica (en-ter'i-ka). Această specie este împărțită în peste 2400 de serovarii, adică soiuri serologice. Termenul serotip este adesea folosit pentru a însemna același lucru. Cu titlu de explicație a acestor termeni, atunci

când salmonelele sunt injectate în animale adecvate, flagelii, capsulele și pereții celulari ai acestora servesc ca antigeni care determină animalele să iorme anticorpi în sângele lor care sunt specifici pentru fiecare dintre aceste structuri. Astfel, se folosesc mijloace serologice pentru diferențierea microorganismelor. Serologia este discutată mai pe larg în Capitolul 18, dar deocamdată va fi suficient să precizăm că poate fi folosită pentru diferențierea și identificarea bacteriilor.

Un serovar precum Salmonella typhimurium (ti-fi-mur'e-um) nu este o specie și ar trebui să fie scris mai corect ca Salmonella enterica serovar Typhimurium." Convenția folosită acum de Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor (CDC) este de a scrie întregul nume la prima mențiune și apoi de a-l abreviera ca, de exemplu, Salmonella Typhimurium Pentru simplitate, vom identifica în acest text serovariile de salmonella așa cum am fi specii, adică S. typhimurium etc.

Anticorpii specifici, care sunt disponibili comercial, pot fi utilizați pentru a diferenția serovariile Salmonella printr-un sistem cunoscut sub numele de schema Kauffmann-White. Această schemă desemnează un organism prin numere și litere care corespund unor antigeni specifici de pe capsula organismului, peretele celular și flageli, care sunt identificate prin literele K, O și, respectiv, H. De exemplu, formula antigenică pentru bacteria S. typhimurium este

Flagelii

(a) Proteus mirabilis cu flageli peritric

0.3pm

(b) O colonie înfloritoare de Proteus mirabilis, care prezintă inele concentrice de creștere

e .9 Proteu mirabilis. .comunicarea hemitică între celulele bacteriene determină j > t -)n - - adaptate la înotul în fluid (puțini flageli) la celulele care sunt capabile să se deplaseze pe suprafețe (numeroase flageli). Creșterea concentrică (b) rezultă dintr-o formă periodică sincronizată sau \ e ;ion la forma extrem de flagelată capabilă de mișcare pe suprafețe.

Fotografia cu celula Proteus este probabil o celulă care roiește. De unde ai ști?

Ql,4,[5],12:H,i,l,2. Multe salmonele sunt denumite numai după formulele lor antigenice. Serovariile pot fi diferențiate în continuare prin proprietăți biochimice sau fiziologice speciale în biovari sau biotipuri.

Un aranjament taxonomic recent bazat pe cea mai recentă tehnologie moleculară adaugă o altă specie, Salmonella bongori (bon'gor-e). Ihis este un rezident al animalelor „cu sânge rece" – a fost inițial izolat de o șopârlă din orașul Bongor din națiunea africană din deșertul Ciad – și este rar întâlnit la oameni.

Febra tifoidă, cauzată de Salmonella typhi (ti'fe), este cea mai gravă boală cauzată de orice membru al genului Salmonella (pagina 720). O boală gastrointestinală mai puțin severă cauzată de alte salmonele se numește salmoneloză (pagina 719). Salmoneloza este una dintre cele mai comune forme de boală alimentară. (Vezi caseta din Capitolul 25 la pagina 721.)

Shigella Speciile de Shigella (shi-gelTa) sunt responsabile pentru o boală numită dizenterie bacilară sau shigeloză (pagina 718). Spre deosebire de salmonele, acestea se găsesc numai la oameni. Unele tulpini de Shigella pot provoca dizenterie care pun viața în pericol.

Klebsiella Membrii genului Klebsiella (kleb-se-el'la) se găsesc în mod obișnuit în sol sau apă. Multe izolate sunt capabile să fixeze azotul din atmosferă, ceea ce a fost propus ca fiind un avantaj nutrițional în populațiile izolate cu puțin azot proteic în dieta lor. Specia Klebsiella pneumoniae (nu-mo'ne-i) provoacă ocazional o formă gravă de pneumonie la om.

Serratia Serratia marcescens (ser-ra' te-a mar-ses'sens) este o specie bacteriană care se distinge prin producerea de pigment roșu. În situații de spitalizare, organismul poate fi găsit pe catetere, în soluții saline de irigare și în alte soluții presupus sterile. O astfel de contaminare este probabil cauza multor infecții ale tractului urinar și respirator în spitale.

Proteus Coloniile de bacterii Proteus (pro'te-us) care cresc pe agar prezintă un tip de creștere în roi. Celulele roiteli cu mulți flageli (Figura 11.9a) se deplasează în exterior pe marginile coloniei și apoi revin la celule normale cu doar câțiva flageli și motilitate redusă. Periodic, se dezvoltă noi generații de celule puternic mobile, iar procesul se repetă. Ca rezultat, o colonie Proteus are aspectul distinctiv al unei serii de inele concentrice (Figura 11.9b). Acest gen de bacterii este implicat în multe infecții ale tractului urinar și în răni.

Yersinia Yersinia peslis (yer-sin'e-a pes'tis) provoacă ciuma, Moartea Neagră a Europei medievale (pagina 655). Șobolanii urbani din unele părți ale lumii și veverițele de pământ din sud-vestul american poartă aceste bacterii. De obicei, puricii transmit organismele printre animale și către oameni, deși contactul cu picăturile respiratorii de la animalele infectate și de la oameni poate fi implicat în transmitere.

Erwinia Speciile Erwinia (er-wi'ne-a) sunt în primul rând agenți patogeni ai plantelor; unele provoacă boli de putregai moale a plantelor. Aceste specii produc

SEM

Figura 11.10 Bdellovibrio bacteriovorus. Bacteria galbenă este

B. bacteriovorus. Atacă o celulă bacteriană prezentată în albastru.

Ar ataca această bacterie Staphylococcus aureus?

enzime care hidrolizează pectina dintre celulele vegetale individuale. Acest lucru face ca celulele plantelor să se separe unele de altele, o boală pe care patologii plantelor o numesc putregaiul plantelor.

Enterobacter Două specii de Enterobacter (en-te-ro-bak'ter), E. cloacae (klo-ă'kî) și E. aerogenes (ă-râ'jen-ez), pot provoca infecții ale tractului urinar și infecții dobândite în spital. Ele sunt larg distribuite la oameni și animale, precum și în apă, canalizare și sol.

Pasteurellales

Bacteriile din ordinul Pasteurellales sunt nemotile; sunt cunoscuți mai ales ca agenți patogeni umani și animale.

Pasteurella Genul Pasteurella (pas-tyer-el'la) este cunoscut în primul rând ca agent patogen al animalelor domestice. Provoacă sepsis la bovine, holera la păsări la găini și alte păsări și pneumonie la mai multe tipuri de animale. „Cea mai cunoscută specie este Pasteurella multocida (mul-to'si-da), care poate fi transmisă oamenilor prin mușcături de câine și pisică.

Haemophilus Haemophilus (he-ma' fil-us) este un gen foarte important de bacterii patogene. Aceste organisme locuiesc în membranele mucoase ale tractului respirator superior, gurii, vaginului și tractului intestinal. Cea mai cunoscută specie care afectează oamenii este Haemophilus influenzae (in-flu-en'za), numită cu mult timp în urmă din cauza credinței eronate că este responsabil de gripă.

Numele Haemophilus este derivat din cerința bacteriilor pentru sânge în mediul lor de cultură (hemo = sânge). Ei nu sunt capabili să sintetizeze părți importante ale sistemului citocrom necesare respirației și obțin aceste substanțe din fracția hem, cunoscută sub numele de factor X, a hemoglobinei din sânge. Mediul de cultură trebuie, de asemenea, să furnizeze

cofactor nicotinamidă adenin dinucleotidă (din NAD+ sau NADP+), care este cunoscut ca factor V. Laboratoarele clinice folosesc teste pentru cerința actorilor X și V de a identifica izolatele ca specii de Haemophilus.

Haemophilus influenzae este responsabil pentru mai multe boli importante. A fost o cauză frecventă a meningitei la copiii mici și este o cauză frecventă a durerilor de urechi. Alte afecțiuni clinice cauzate de H. influenzae includ epiglotita (o afecțiune care pune viața în pericol în care epiglota devine infectată și inflamată), artrita septică la copii, bronșita și pneumonia. Haemophilus ducreyi (dii-kră'e) este cauza chancroiului bolii cu transmitere sexuală (pag. 762).

VERIFICAȚI-VĂ ÎNȚELEGEREA

Realizați o cheie dihotomică pentru a distinge ordinele gammaproteobacteriilor descrise în acest capitol. 11-3

Deltaproteobacteria

Deltaproteobacterii sunt distinctive prin faptul că includ unele bacterii care sunt prădători asupra altor bacterii. Bacteriile din acest grup contribuie de asemenea la ciclul sulfului.

Bdellovibrio Bdellovibrio (del-ld-vib're-d) este un gen deosebit de interesant. Atacă alte bacterii gram-negative. Se atașează strâns (bdella = lipitoare; Figura 11.1C), iar după ce pătrunde în stratul exterior de bacterii gram-negative, se reproduce în periplasmă. Acolo, celula se alungește într-o spirală strânsă, care apoi se fragmentează aproape simultan în mai multe celule flagelate individuale. Celula gazdă lizează apoi, eliberând celulele Bdellovibrio.

Desulfovibronales

Membrii ordinului Desulfovibrionales sunt bacterii reducătoare de sulf. Sunt în mod obligatoriu bacterii anaerobe care folosesc forme oxidate de sulf, cum ar fi sulfații (SO42-) sau sulful elementar (S°), mai degrabă decât oxigenul ca acceptoare de electroni. Produsul acestei reduceri este hidrogenul sulfurat (H2S). (Deoarece H2S nu este asimilat ca nutrient, acest tip de metabolism este numit disimilator. Activitatea acestor bacterii eliberează

milioane de tone de H2S în atmosferă în fiecare an și joacă un rol cheie în ciclul sulfului (vezi Figura 27.7 la pagina 780). sursă de energie autotrofă.

■ b'-o .ne cel mai bine studiat gen reducător de sulf este Desulfovibrio (de'sul-fd-vib're-d), care se găsește în sedimentele anaerobe și în tractul intestinal al oamenilor și animalelor. > Bacteriile reducătoare de ulfu și reducătoare de sulfat utilizează compuși organici precum lactatul, etanolul sau acizii grași ca donatori de electroni. Aceasta reduce sulful sau sulfatul la H2S. Când H2S reacționează cu fierul formează FeS insolubil, care este responsabil pentru culoarea neagră a multor sedimente. =